Aus der Abteilung Dermatologie II
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. W. Adam
der Hautklinik der Universität Tübingen

ALKALISCHE UND SAURE PHOSPHATASEN IM MENSCHLICHEN SEMINALPLASMA

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Rainer Moeseritz
aus Lindenthal/Leipzig

1980

Aus der Abteilung Dermatologie II
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. W. Adam
der Hautklinik der Universität Tübingen

ALKALISCHE UND SAURE PHOSPHATASEN IM MENSCHLICHEN SEMINALPLASMA

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Rainer Moeseritz
aus Lindenthal/Leipzig

1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. H. Heimann
Berichterstatter: Professor Dr. W. Adam

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung und Problemstellung	1
2. Gewinnung des Untersuchungsmaterials	4
2.1. Gesamtejakulat	4
2.2. Split-Ejakulat	4
3. Bestimmungsmethode der Phosphatasen	5
3.1. Methode zur Bestimmung der alkalischen Phosphatase im Seminalplasma	5
3.1.1. Prinzip der Bestimmung	5
3.1.2. Reagenzien	5
3.1.3. Geräte	6
3.1.4. Durchführung der Bestimmung	6
3.1.5. Berechnung der alkalischen Phosphataseaktivität	7
3.2. Methode zur Bestimmung der sauren Phosphatase im Seminalplasma	9
3.2.1. Prinzip der Bestimmungsmethode	9
3.2.2. Reagenzien	9
3.2.3. Humanalbuminlösung 5 %	9
3.2.4. Geräte	10
3.2.5. Durchführung der Bestimmung	10
3.2.6. Berechnung der sauren Phosphataseaktivität	11
4. Bestimmung der mit den Phosphatasewerten zu vergleichenden Parameter	13
4.1. Spermiogramm-Parameter	13
4.2. Klinische Diagnosen	13

Seite

5. Untersuchungen des Split-Ejakulates 14

6. Ergebnisse 14

6.1. Ergebnisse der Untersuchungen im Gesamtejakulat ohne diagnostische Differenzierung 14

6.1.1. Darstellung der Meßergebnisse 14
6.1.2. Zusammenhang zwischen ALP und SAP 15
6.1.3. Phosphatase und pH-Wert 15
6.1.4. Phosphatase und Spermienanzahl 15
6.1.5. Phosphatase und Initial-Fruktose 16
6.1.6. Phosphatase und Konfiguration 16

6.2. Korrelation zwischen Spermiogrammparametern bei Normozoospermie des Gesamtejakulates 16

6.2.1. Alkalische und saure Phosphatase 16
6.2.2. Phosphatase und pH-Wert 17
6.2.3. Phosphatase und Spermienanzahl 17
6.2.4. Phosphatase und Initial-Fruktose 18
6.2.5. Phosphatase und Konfiguration 18

6.3. Korrelation zwischen Spermiogrammparametern bei Oligozoospermie 19

6.3.1. Alkalische und saure Phosphatase 19
6.3.2. Phosphatase und pH-Wert 19
6.3.3. Phosphatase und Spermienanzahl 19
6.3.4. Phosphatase und Initial-Fruktose 20
6.3.5. Phosphatase und Konfiguration 20

6.4. Korrelation zwischen Spermiogrammparametern bei Oligozoo- plus Asthenospermie 20

6.4.1. Alkalische und saure Phosphatase 20
6.4.2. Phosphatase und pH-Wert 21
6.4.3. Phosphatase und Spermienanzahl 21
6.4.4. Phosphatase und Initial-Fruktose 21
6.4.5. Phosphatase und Konfiguration 22

Seite

6.5. Ergebnisse der Phosphatase-Bestimmungen bei den übrigen Diagnosen 22

6.5.1. Ergebnisse der Azoospermie 22

6.5.2. Ergebnisse von Asthenospermie bei Samenwegsinfektion 23

6.5.3. Darstellung der Phosphatase in Bezug zu verschiedenen Diagnosen 23

6.6. Ergebnisse von Split-Ejakulat 23

7. Diskussion der Ergebnisse 24

8. Zusammenfassung 28

Abbildungen 29

Tabellen 51

Literaturverzeichnis 55

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548919_0042

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Gruppenspeziefische Monoesterasen, die ein Bestandteil aller lebenden Zellen sind, werden nach ihrem Wirkungsoptimum des pH in saure (SAP) und in alkalische Phosphatasen (ALP) unterschieden. Die Bestimmung der Aktivität dieser Phosphatasen im menschlichen Serum gehört seit längerer Zeit zu den Aufgaben des Routine-Labors.
KUTSCHER und WOLBERGS (1935) sowie GUTMAN (1941), LUNDQUIST (1942) und andere berichten über Bestimmungsmethoden der Phosphatasen im Seminalplasma. Da diese Bestimmungsmethoden sehr aufwendig sind, konnten sie bisher noch nicht in das Routine-Programm aufgenommen werden.
Mit der Frage der Übertragbarkeit der Bestimmungsmethode für Phosphatasen im Serum auf Untersuchungen im Seminalplasma mit Hilfe der Testkombination der Firma Boehringer, Mannheim hat sich SCHÜLLER (1975) beschäftigt. Dabei kam SCHÜLLER zu dem Ergebnis, daß die Bestimmungsmethode der Phosphatasen im Serum mit Hilfe der Biochemica-Testkombination auch auf das Seminalplasma anwendbar ist und in das Routine-Programm aufgenommen werden kann.
Bearbeitet wurde dabei nur die saure Phosphatase, während die alkalische Phosphatase unberücksichtigt blieb. Insgesamt liegen mehr Untersuchungen über den Gehalt an SAP als über den Gehalt an ALP vor, obgleich auch hierüber von BERN (1949), KIPPING (1971) und DONDERO (1974) berichtet wird.

In früheren Jahrzehnten beschränkte sich die diagnostische Auswertung des menschlichen Sperma hauptsächlich auf zytologische Aspekte (Zählung und Differenzierung der Spermien). Heute wird besonders durch die Arbeiten von MANN (1946 und 1964), LUNDQUIST (1949), MAC LEOD (1956) sowie GRAYHACK und KROPP (1965) die Diagnostik durch biochemische Untersuchungen des Seminalplasmas ergänzt. Die Masse des Ejakulates setzt sich im wesentlichen aus Prostata- und Bläschendrüsensekret zusammen. Der Anteil, der über den Ductus deferens aus dem Nebenhoden kommt und neben Sekret vor allem die Spermatozoen enthält, ist relativ gering.

Von diagnostischem Interesse sind besonders diejenigen Substanzen im Seminalplasma, die einen wohldefinierten Ursprungsort haben. So kann man zum Beispiel durch die Bestimmung der Fruktose im Seminalplasma (MANN 1946), im Zusammenhang mit anderen Parametern, die Funktion der Bläschendrüsen beurteilen.
Für die Prostata gelten seit den Untersuchungen von SCHERSTEIN (1930) die Zitronensäure, von MANN (1951) das Inosit und von KUTSCHER und WOLBERGS (1935) die saure Phosphatase, als repräsentative Substanzen.
KUTSCHER und WOLBERGS (1935) konnten, nachdem sie bereits im Männerurin Phosphataseaktivität gefunden hatten, auch im menschlichen Ejakulat saure Phosphataseaktivität nachweisen.
BERN (1949) fand im Tierejakulat sowohl alkalische als auch saure Phosphatase, wobei die Aktivität im Seminalplasma wesentlich höher war als in den Spermatozoen.
LUNDQUIST (1947), der schon 1946 das Phosphorylcholin im frisch gewonnenen Ejakulat entdeckte, berichtet von der Desphosphorylierung des Phosphorylcholin beim Kontakt mit saurer Phosphatase. Zum Zeitpunkt der Ejakulation enthält das Seminalplasma aber noch kein freies Cholin (KAHANE und LEVY 1945).
DAWSON, MANN und WHITE (1957) fanden als ein weiteres Substrat der sauren Phosphatase das Glycerylphosphorylcholin, welches heute neben Carnitin zur Funktionsdiagnostik des Nebenhodens herangezogen wird (FRENKEL, PETERSON, DAVIS, FREUND 1974).

Nach MANN (1964) besteht eine Abhängigkeit der Phosphataseaktivität von der Funktion der Leydigschen Zwischenzellen des Hodens. Die Leydigschen Zwischenzellen sind die Produktionsstätte des Testosterons, welches direkt eine Organstimulation der Prostata bewirkt. Daher kann eine niedrige Testosteronproduktion auch immer nur niedrige saure Phosphatasewerte der Prostata bewirken (KIMMIG et al 1967). Dies verdeutlicht sich während der Pubertät, wo es mit Beginn der Testosteronproduktion auch zu einem sprunghaften Anstieg der Enzymaktivität kommt (GUTMAN und GUTMAN (1938), ENGBERG, ANDERSON, SURY, RAFT (1947), RABOCH und HOMULKA (1962), SCHIRREN (1971)). Im Gegensatz dazu scheint ein Zusammenhang zwischen Testosteronproduktion und alkalischer Phosphataseaktivität nicht zu bestehen (DONDERO, SCIARA, ISIDORI 1974). Weitere Hinweise über das Vorkommen der alkalischen Phosphatase in der Samenflüssigkeit sind in der Literatur spärlich (O. HOFFMANN-OSTENHOF und R. EHRENREICH (1966) und MANN (1964)).
MANN (1964) glaubt an eine Beteiligung der sauren Phosphatase am Kohlenhydratstoffwechsel der Spermatozoen. NIKOLOWSKI (1950) versuchte zwischen den sauren Phosphatasewerten des

Samens und der Beweglichkeit der Spermien Beziehungen herzustellen. So wurde die Bedeutung der sauren Phosphatase in der Andrologie von den meisten Autoren hauptsächlich im Zusammenhang mit der Fertilität gesehen.

Klinische Bedeutung erlangte die Bestimmung der sauren Phosphatase durch GUTMAN und GUTMAN (1938) in Bezug auf die Serumdiagnosik des Prostatakarzinoms. Durch ihre Tartrathemmbarkeit im Serum, herausgefunden von FISHMAN und LERNER (1953), ist es möglich, die saure Phosphatase prostatischen Ursprungs zu bestimmen. Dabei soll es nach RICHTERICH (1962) beim Vorliegen eines Prostatakarzinoms zum Übertritt der sauren Phosphatase ins Serum kommen.

Die folgende Arbeit beschäftigt sich mit den Bestimmungen der alkalischen und sauren Phosphatasen im Seminalplasma unter Verwendung der Merckotest-Reagenzien, da unter Berücksichtigung der bereits vorliegenden Analysen an die mögliche Aufnahme der Bestimmungen in ein Routine-Programm gedacht war.
Weiterhin werden die gefundenen Werte mit anderen Ejakulat - Parametern unter Anwendung statistischer Methoden verglichen. Darüber hinaus sollte an einigen Proben von Split-Ejakulaten geprüft werden, ob sich in den verschiedenen Fraktionen signifikante Unterschiede hinsichtlich der alkalischen und sauren Phosphataseaktivität zeigen.

2. GEWINNUNG DES UNTERSUCHUNGSMATERIALS

2.1. Gesamtejakulat

Von Patienten der Fertilitätssprechstunde der Universitäts-Hautklinik Tübingen wurden 106 Ejakulate, die durch Masturbation gewonnen wurden, untersucht. Die Patienten hatten zuvor eine Sexualkarenz von 5 Tagen einzuhalten. Es konnten nur Ejakulate mit ausreichender Menge (3 ml) untersucht werden, da die Routineuntersuchung im Labor nicht behindert werden sollte.
Nach der Verflüssigung wurde das Ejakulat 30 Minuten bei 10 g zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und auf Spermien kontrolliert. Dieser Vorgang wurde bis zur völligen Spermienfreiheit wiederholt und der Überstand bei -20°C eingefroren. Nach Sammlung einiger Proben wurde das Seminalplasma aufgetaut, mit Humanalbumin, entsprechend der Versuchsmethode, verdünnt und die Phosphataseaktivität bestimmt.

2.2. Split - Ejakulat

Die Voraussetzung für die Brauchbarkeit des Split-Ejakulates war, daß das Ejakulat in etwa 3 gleichen Volumina während des Ergusses aufgefangen wurde. Da bei dieser Methode der Ejakulatgewinnung sehr große psychische Belastungen bei den Patienten auftraten, waren leider die Mengendifferenzen der einzelnen Fraktionen zu groß, so daß nur die Split-Ejakulate von 3 Patienten verwendet werden konnten. Die restlichen Split-Ejakulate wurden von gesunden freiwilligen Versuchspersonen gestellt. Auch hier wurde eine Sexualkarenz von 5 Tagen eingehalten.

3. BESTIMMUNGSMETHODE DER PHOSPHATASEN

3.1. Methode zur Bestimmung der alkalischen Phosphatase im Seminalplasma

3.1.1. Prinzip der Bestimmungsmethode

Das als Substrat dienende p-Nitrophenylphosphat wird durch die Enzymwirkung der Phosphatasen in p-Nitrophenol und Phosphorsäure gespalten. Durch Zugabe von Natronlauge wird diese Reaktion unterbrochen und das im sauren pH-Bereich als ungefärbtes p-Nitrophenol vorliegende Spaltprodukt wird durch das Alkalisieren mit Natronlauge in das gelbgefärbte Anion umgewandelt. Die pro Zeiteinheit freigesetzte, nun als gelbes p-Nitrophenolat vorliegende p-Nitrophenolmenge, ist der Phosphataseaktivität direkt proportional und kann auf Grund ihrer Färbung photometrisch bestimmt werden. Die photometrische Bestimmung wird in einem diskontinuierlichen, d.h. in einem 2-Punkte-Meßverfahren im Bereich des sichtbaren Lichtes bei 405 nm durchgeführt.
Da bei dieser photometrischen Bestimmung sowohl die Eigenfarbe des verdünnten Seminalplasmas, als auch die Spontanhydrolyse des Substrates nicht in die Berechnung eingehen soll, muß für jede Bestimmung ein Leerwert angesetzt werden. Dabei wird erst nach Zugabe der Natronlauge und damit nach Beendigung der Reaktion, das Seminalplasma in das Leerwertröhrchen gegeben.

3.1.2. R e a g e n z i e n

Ein vollständiger Reagenziensatz für etwa 100 Bestimmungen der alkalischen Phosphatase im Serum (Phosphatasebestimmung nach BESSEY, LOWRY und BROCK 1946), wird von der Firma Merck, Darmstadt, geliefert.
Folgende Reagenzien sind darin enthalten:

Puffer, Substrat (20 Tabletten), Natronlauge, Standard (Konzentrat).

3.1.3. G e r ä t e

Folgende Geräte werden für die Bestimmung der alkalischen Phosphatase benötigt:
Detergenzienfreie Reagenzgläser, Eppendorf-Pipetten, Zentrifuge, Dispenser, Pipetten, Spektralphotometer, Wasserbad, Stoppuhr.

3.1.4. Durchführung der Bestimmung

Nach der Verflüssigung des Ejakulates und der Abtrennung einer bestimmten Menge für die Routineuntersuchung im Labor, muß das Material schnell weiterverarbeitet werden. Nach KIPPING (1970) enthalten menschliche Spermatozoen saure Phosphormonoesterase. Da die Gefahr einer Schädigung der Spermatozoen bei der Zentrifugation und damit die Möglichkeit des Übertritts von Phosphormonoesterase in das Seminalplasma besteht, muß darauf geachtet werden, daß nach dem Zentrifugieren keine Spermien im Seminalplasma vorhanden sind. Das spermienfreie Seminalplasma wurde in kleine Plastikhütchen gefüllt und bei -20°C sofort eingefroren. Eigene Untersuchungen zeigten selbst bei Proben, die mehr als drei Monate tiefgefroren gelagert wurden, keine nennenswerten Unterschiede der Phosphataseaktivität gegenüber den Werten, die sofort nach dem Zentrifugieren (10 g) im Seminalplasma bestimmt worden waren. Dadurch erübrigte sich die Stabilisierung des Enzyms - BROCK und WILMANS (1959)-, wie es zum Beispiel mit Hilfe von $NaHSO_4 \times H_2O$ von ROSEMUND (1953) und mit $(NH_4)_2SO_4$ von LUNDQUIST (1954) vorgeschlagen wird.
KIPPING (1970) fand ebenfalls keine nennenswerten Verluste der Enzymaktivität nach 20-tägiger Lagerung bei

-22°C. Dies wurde auch von SCHIFF (1975) bestätigt. Das Eingefrieren und das Ansammeln einer genügend großen Anzahl von Proben ermöglichte eine effektivere Arbeitsweise bei der Bestimmung der Phosphataseaktivität.

Zur Bestimmung wurden die tiefgefrorenen Proben bei Zimmertemperatur aufgetaut (ca. 5 Min.). In der Zwischenzeit wurden zwei Reagenzgläschen, ein Blindproben- und ein Analyseglas, für jede Bestimmung vorbereitet. In jedes Reagenzglas wurden von der Puffer-Substrat-Lösung 1,0 ml mit einer Eppendorf-Pipette einpipettiert und sofort für fünf Minuten in ein Wasserbad von 37°C gestellt. Anschließend gaben wir genau 0,1 ml der inzwischen aufgetauten und nochmals zentrifugierten Probe, unter gleichzeitigem vorsichtigem Mischen, in das Analysegläschen. Nach genau 30 minütiger Verweildauer im Wasserbad von 37°C stoppten wir die Reaktion durch Gabe von 10 ml 0,02 n NaOH in beide Reagenzgläser. Nach Eingabe von 0,1 ml der Seminalplasmaprobe in das Blindprobenglas wurden die Reagenzgläser aus dem Wasserbad genommen und nochmals auf einem kleinen Schüttler vorsichtig gemischt. Nach Abkühlung der Proben auf Zimmertemperatur im Photometerraum wurde die Extinktion der Analyse gegen die Blindprobe bei 405 nm gemessen.

3.1.5. Berechnung der alkalischen Phosphataseaktivität

Um das ΔE, das heißt die Extinktionsdifferenz zwischen Blindprobe und Analysenprobe zu bestimmen, muß in beiden Röhrchen die Extinktion gegen ein Vergleichsröhrchen mit Aqua dest gemessen werden. Für die photometrischen Messungen wurden Glasküvetten von 10 mm Schichtdicke und einem Volumen von ca. 4 ml benutzt. Die Extinktionsdifferenzen nannten wir ΔE_{Bl} und ΔE_{A}.

Die Differenz dieser beiden Extinktionswerte ist direkt proportional der Menge an alkalischer Phosphatase und

wurde mit ΔE bezeichnet.
Folgende Beziehung ergibt sich aus der direkten Proportionalität zwischen der Extinktion ΔE und der Aktivität c :

$$c = k \times \Delta E$$

$$k = \frac{c}{\Delta E}$$

Zur Berechnung der Volumenaktivität der alkalischen Phosphatase wird von Merckotest folgende Gleichung angegeben :

$$\text{Volumenaktivität} = \Delta E_{405} \times 200 \text{ mU/ml}$$

Der Proportionalitätsfaktor $k = 200$ setzt sich aus folgenden Parametern zusammen :

V = Testvolumen in ml
v = Probevolumen in ml
ε = Extinktionskoeffizient von p-Nitrophenylphosphat (18,5 $cm^2/\mu Mol$ bei 405 nm)
d = Schichtdicke der Küvette in cm
t = Inkubationszeit in Minuten.

Daraus ergibt sich folgende Gleichung :

$$\text{Volumenaktivität c (mU/ml)} = \frac{\Delta E \times V \times 1000}{t \times \varepsilon \times d \times v}$$

$$= \frac{\Delta E \times 11{,}1 \times 1000}{30 \times 18{,}5 \times 1{,}0 \times 0{,}2}$$

3.2. Methode zur Bestimmung der sauren Phosphatase im Seminalplasma

3.2.1. Prinzip der Bestimmungsmethode

Bei der sauren Phosphatasebestimmung nach ANDERSCH und SZCYPINSKI (1947) dient, wie bei der Bestimmung der alkalischen Phosphatase, p-Nitrophenylphosphat als Substrat; ebenfalls beschrieben bei HILL (1956) und JACOBSSON (1960). Gemäß ihrem unterschiedlichen pH-Wirkungsoptimum, wird bei der Bestimmung der sauren Phosphatase ein Citronensäure-Citratpuffer mit pH 4,8 verwendet.
Da auch bei der enzymatischen Reaktion der sauren Phosphatase mit dem p-Nitrophenylphosphat das freigesetzte p-Nitrophenol als gelbes Anion vorliegt, ist in entsprechender Weise wie bei der Bestimmung der alkalischen Phosphatase eine photometrische Bestimmung der sauren Phosphataseaktivität möglich. (Siehe 3.1.1.).

3.2.2. R e a g e n z i e n

Ein vollständiger Reagenziensatz für etwa 50 Bestimmungen der sauren Phosphatase im Serum wird von der Firma Merck, Darmstadt geliefert. Folgende Reagenzien sind darin enthalten: Puffer, Substrat (10 Tabletten), Natriumtartrat, Natronlauge, Standard (Konzentrat).

3.2.3. Humanalbuminlösung 5 %

Aus der Universitätsapotheke-Tübingen wurden handelsübliche, 250 ml fassende Infusionsflaschen verwendet. Um für die Verdünnungsreihe ein Volumen von exakt 4,5 ml zu erhalten, wurde der Inhalt

einer Flasche vorsichtig in einen Dispenser (Swelab) umgefüllt. Diese Lösung ist im Kühlschrank nur wenige Wochen haltbar, und ist bei mikrobieller Verunreinigung (Trübung) zu verwerfen.

3.2.4. G e r ä t e

Es werden dieselben Geräte wie bei der Bestimmung der alkalischen Phosphatase verwendet. (siehe 3.1.3.)

3.2.5. Durchführung der Bestimmung

Nach einer Studie von WALTHER (1969) wurde kein Aktivitätsverlust der sauren Phosphatase bei einer Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung bis 1 : 10.000 beobachtet. Nach SCHÜLLER (1975), die Verdünnungsreihen bis 1 : 40.000 aufstellte, besteht nur bei Verwendung von Humanalbumin 5 % eine Enzymstabilität. Eigene Untersuchungen ergaben Übereinstimmung mit den Ergebnissen von WALTHER (1969) bis zu einer Verdünnung von 1 : 20.000. Bei Verdünnungen über 1 : 20.000 eignete sich physiologische Kochsalzlösung nicht, da mit dem Grad der Verdünnung die gemessenen Enzymaktivitäten immer größere Streuungen aufwiesen. Bei Verwendung von Humanalbumin 5 % konnten wir selbst bei Verdünnungen bis 1 : 80.000 keine Streuung der Enzymaktivitäten feststellen. Deshalb verwendeten wir als Verdünnungsmittel Humanalbumin 5 %.

Für jede Einzelbestimmung wird eine Verdünnungsreihe bis 1 : 50.000 angefertigt, die drei Reagenzgläser umfaßt. In jedes Reagenzgläschen gibt man mit Hilfe des Dispensers 4,5 ml Humanalbumin 5 %.

Von dem Seminalplasma werden mit der Eppendorfpipette

0,1 ml in das erste Reagenzglas pipettiert. Nach sehr vorsichtiger und gründlicher Durchmischung mit Hilfe eines kleinen Laborschüttlers, pipettiert man wiederum 0,1 ml aus dem Reagenzglas (1) in das Reagenzglas (2).
Aus dem Reagenzglas (2) werden, nach vollständiger Mischung, 0,2 ml in das Reagenzglas (3) gegeben.
Um Fehler zu vermeiden, sollte immer dieselbe Pipette verwendet werden; auch muß stets auf eine gründliche Durchmischung ohne Schaumbildung geachtet werden.
Der Verdünnungsgrad des Seminalplasmas beträgt somit:

$$\frac{0,1}{4,6} \times \frac{0,1}{4,6} \times \frac{0,2}{4,7} \lesssim \frac{1}{50.000}$$

Wie bei der Bestimmung der alkalischen Phosphatase wurden zwei Reagenzgläser, ein Blindproben und ein Analyseglas, für jede Bestimmung vorbereitet. In beide Röhrchen pipettiert man 1,0 ml Puffer-Substrat (2) und stellt sie in ein Wasserbad von 37° C. Nach 5 Minuten wird aus dem Reagenzglas (3) der Verdünnungsreihe 0,2 ml in das Analyseglas pipettiert, nochmals gemischt und in ein Wasserbad von 37° C gestellt. Die Enzymreaktion wurde nach genau 30 Minuten durch Zugabe von 10 ml 0,02 n NaOH gestoppt.
Anschließend gibt man in die Blindprobe 0,2 ml verdünntes Seminalplasma, mischt nochmals, und mißt nach Abkühlung auf Zimmertemperatur im Photometerraum die Extinktion der Analyse gegen die Blindprobe bei 405 nm.

3.2.6. Berechnung der sauren Phosphataseaktivität

Die Berechnung der sauren Phosphataseaktivität erfolgt nach den gleichen Richtlinien wie die Berechnung der

alkalischen Phosphataseaktivität (siehe 3.1.6.). Da aber bei der Bestimmung der sauren Phosphatase eine Verdünnung mit Humanalbumin im Verhältnis 1 : 50.000 notwendig ist, muß die Konstante k mit Hilfe einer Eichkurve neu bestimmt werden.

Zur Anfertigung der Eichlösung wurde lyophilisierte saure Phosphatase (Boehringer Mannheim, Best. Nr. 15439) in 200 ml Humanalbuminlösung 5 % eingewogen. Bestimmte Mengen dieser Lösung wurden entsprechend der benötigten Aktivität (50, 500 ..... 3000 U/ml) mit Humanalbumin verdünnt. Grafische Darstellung der Eichkurve siehe Abbildung 1.

Von jedem Meßwert wird aus der Eichkurve der Quotient $\frac{c}{\Delta E}$ bestimmt. Die Steigung der Eichgeraden ist die neu ermittelte Konstante k_E (k = 3605).

Von Merckotest wurde zur Berechnung der Volumenaktivität folgende Gleichung angegeben:

$$\text{Volumenaktivität} = \Delta E_{405} \times 101 \text{ (U/L)}$$

Berücksichtigt man das Verdünnungsverhältnis von 1 : 50.000, so ergibt sich nach der Gleichung von Merckotest eine Konstante $k_M = 5050$. Die aus der Eichkurve ermittelte Konstante beträgt aber $k_E = 3605$. Damit errechnet sich der Korrekturfaktor aus der Gleichung:

$$F_k = \frac{k_E}{k_M} = 0{,}714$$

Die Volumenaktivität der sauren Phosphatase bei einer Verdünnung von 1 : 50.000 errechnet sich aus:

$$c\ (U/ml) = 3605 \times \Delta E$$

oder

$$c\ (U/ml) = 5050 \times 0{,}714 \times \Delta E$$

Alle übrigen in den Proportionalitätsfaktor eingehenden Parameter entsprechen denen bei der alkalischen Bestimmung (siehe 3.1.6.). Somit ergibt sich:

$$c\ (U/ml) = \frac{\Delta E \times 5050 \times 0{,}714 \times 11{,}2 \times 1000}{30 \times 18{,}5 \times 1 \times 0{,}2}$$

4. BESTIMMUNG DER MIT DEN PHOSPHATASEWERTEN ZU VERGLEICHENDEN PARAMETERN

4.1. Spermiogramm - Parameter

Von den Bestimmungen, die im andrologischen Labor regelmäßig vorgenommen werden, wurden die Meßwerte von Volumen und pH, ferner die Initialfruktose, die Ergebnisse des Nativpräparates und des Spermiozytogrammes zu den Phosphatasewerten in Beziehung gesetzt.

4.2. Klinische Diagnosen

Aus den Karteikarten der Universitäts-Hautklinik Tübingen konnten, nach Abschluß der Untersuchungen, die Diagnosen der einzelnen Patienten entnommen werden. Für den Vergleich mit den Phosphatasewerten unterteilten wir die Diagnosen in: Normozoospermie, Oligozoospermie und in Oligozoospermie + Asthenospermie. Unter dem Krankengut fanden sich ferner 4 Patienten mit Azoospermie, 10 Patienten mit isolierter Asthenospermie bei Samenwegsinfekt, 4 Patienten mit O.T.A.-Syndrom, 2 Patienten mit Hämospermie und 1 Patient mit Polyspermie.

5. UNTERSUCHUNGEN DES SPLIT-EJAKULATES

Sowohl die alkalische, als auch die saure Phosphatase wurden nach den vorher beschriebenen Methoden (siehe 3.1.1. bzw. 3.2.1.) auch im Split-Ejakulat bestimmt.
Die Diagnosen der drei Patienten wurden ebenfalls aus den Karteikarten entnommen. Nach Zählung und Spermiozytogramm konnte eine Normospermie bei den gesunden freiwilligen Versuchspersonen festgestellt werden.
Soweit es die Mengenverhältnisse der einzelnen Fraktionen zuließen, wurden alle vorher beschriebenen Bestimmungen im Seminalplasma pro Fraktion durchgeführt.

6. E R G E B N I S S E

6.1. Ergebnisse der Untersuchungen im Gesamtejakulat ohne diagnostische Differenzierung

6.1.1. Darstellung der Meßergebnisse

In der Tabelle 1 sind die Werte der alkalischen und sauren Phosphatase, der Fruktose, des pH und der Spermienanzahl pro Milliliter aufgeführt.
Die Aktivität der alkalischen Phosphatase schwankte zwischen 19 mU/ml bei Nr. 66 und 322 mU/ml der Nr. 61; die der sauren Phosphatase zwischen 7 U/ml der Nr. 91 und 2399 U/ml der Nr. 68.
Die Werte der Fruktose lagen im Bereich von 110 µg/ml und 5961 µg/ml.

Die pH-Werte wiesen Zahlengrößen von 6,8 bis 8,0 auf. Bei der Zählung der Spermien pro Milliliter ergaben sich Werte von 0 bis 314 Millionen.

6.1.2. Zusammenhang zwischen ALP und SAP

In der Abb. 2 wurden die Phosphatasewerte in graphischer Beziehung zueinander dargestellt.
Die größte Dichte der Punktewolke liegt im sauren Phosphatasebereich zwischen 100 und 1100 U/ml; im alkalischen Bereich zwischen 10 und 160 mU/ml. Die Korrelation liegt bei $r = + 0{,}474$.
Die Regressionsgleichungen lauten:

a) saure Ph. = 3,30 + (3,62 x alk. Ph.)
b) alk. Ph. = 44,33 + (0,0587 x saure Ph.)

Dabei beträgt der Regr. Standardfehler bei der Gleichung
a) = 0,7998
bei der Gleichung
b) = 0,01227.

6.1.3. Phosphatase und pH-Wert

In der Abb. 3 bzw. Abb. 4 wurden die alkalischen bzw. die sauren Phosphatasewerte in graphischer Beziehung zu den pH-Werten dargestellt.
Für die Werte der Abb. 3 wurde eine Korrelation von - 0,1958, für die der Abb. 4 eine Korrelation von - 0,5776 errechnet.

6.1.4. Phosphatase und Spermienanzahl

Die Anzahl Spermien in Mill./ml wurden in Bezug zur alkalischen Phosphatase in Abb. 5 bzw. zur sauren Phosphatase in Abb. 6 dargestellt.

Der errechnete Korrelationskoeffizient beträgt in Abb. 5 $r = -0{,}0321$; in Abb. 6 $r = -0{,}0125$.

6.1.5. Phosphatase und Initial-Fruktose

Die alkalischen Phosphatasewerte wurden gegen die Fruktosewerte in Abb. 7, die der sauren Phosphatase in Abb. 8, graphisch aufgetragen.
In Abb. 7 stellt sich eine Punkteansammlung im Bereich der alkalischen Phosphatase von ca. 20 bis 160 mU/ml und von 1000 bis ca. 4800 µg/ml im Bereich der Fruktose dar. Der Korrelationskoeffizient beträgt $r = -0{,}3334$.
Im Gegensatz dazu sind die Werte der sauren Phosphatase über einen breiteren Bereich verteilt (Abb. 8).
Der Korrelationskoeffizient beträgt $r = -0{,}2747$.

6.1.6. Phosphatase und Konfiguration

Die Anzahl der normal konfigurierten Spermien im Spermiozytogramm, ausgedrückt in Prozent, wurde in den Abb. 9 und 10 in Korrelation zu den Phosphatasewerten graphisch dargestellt. Die Abb. 10 zeigt, daß bei Werten der sauren Phosphatase über 1000 U/ml die Anzahl der normal konfigurierten Spermien kaum unter 40 % liegt. Dies gilt auch mit wenigen Ausnahmen für die alkalische Phosphatase ab dem Bereich über 90 mU/ml.
In Abb. 9 errechneten wir einen Wert für $r = +0{,}1424$, in Abb. 10 einen Wert $r = +0{,}1616$.

6.2. Korrelation zwischen Spermiogrammparametern bei Normozoospermie des Gesamtejakulates

6.2.1. Alkalische und saure Phosphatase

Eine signifikante Korrelation scheint nach der

graphischen Darstellung der Meßwerte zwischen der sauren und der alkalischen Phosphatase beim Vorliegen einer Normozoospermie zu bestehen (siehe Abb. 11). Mann erkennt, daß bei höherer saurer Phosphataseaktivität auch die der alkalischen ansteigt und umgekehrt.
Dies wird auch durch den errechneten Korrelationskoeffizienten $r = + 0{,}4034$ deutlich.
Die Regressionsgleichungen lauten:

a) saure Ph. = 203,80 + (6,832 x alk. Ph.)
b) alk. Ph. = 59,973 + (0,0238 x saure Ph.)

6.2.2. Phosphatase und pH-Wert

Die graphische Darstellung der Korrelation zwischen der alkalischen Phosphatase und dem pH-Wert in Abb. 12 zeigt eine vermehrte Punkteansammlung bei dem pH-Wert 7,2 über einen alkalischen Phosphatasebereich von 35 bis 115 mU/ml. Ferner erkennt man, daß sowohl bei hohen als auch bei niedrigen pH-Werten unterschiedliche Aktivitäten der alkalischen Phosphatase gemessen wurden. Der Korrelationskoeffizient beträgt $r = + 0{,}02836$.
Aus der Darstellung der Korrelation zwischen der sauren Phosphatase und dem pH-Wert in der Abb. 13, ist eine Verlagerung der Meßpunkte von links oben nach rechts unten zu erkennen. Der hier errechnete Korrelationskoeffizient von $r = - 0{,}5827$ ist hochsignifikant von Null verschieden.

6.2.3. Phosphatase und Spermienanzahl

Die Abb. 14 bzw. die Abb. 15 weisen eine Punkteansammlung zwischen dem Bereich von 50 bis 140 Mill./ml auf. Die dazugehörigen Phosphataseaktivitäten liegen für die alkalische Phosphatase zwischen 40 und 150 mU/ml und für

die saure Phosphatase zwischen 200 und 1100 U/ml. Eine geringe Korrelation wurde mit $r = -0,1111$ (Abb. 14) und $r = +0,1652$ (Abb. 15) errechnet.

6.2.4. Phosphatase und Initial-Fruktose

Siehe Abb. 16 und Abb. 17. Bei der Korrelation zwischen dem Gehalt an alkalischer Phosphatase und der Fruktose, stellt sich ein Punkteschwarm dar, der über den gesamten Bereich verteilt ist. Der errechnete Wert für r beträgt - 0,0146.
Im Gegensatz dazu kann man von einer deutlichen negativen Korrelation zwischen der sauren Phosphatase und der Fruktose sprechen. Der errechnete Wert für r beträgt - 0,4356.

6.2.5. Phosphatase und Konfiguration

Für die in der Abb. 18 dargestellte Korrelation des Seminalplasmagehaltes an alkalischer Phosphatase und der Konfiguration der Spermien wurde ein Korrelationskoeffizient von $r = +0,5284$ errechnet.
Wie aus der Darstellung zu entnehmen ist, liegen die Werte hauptsächlich oberhalb von 70%. Ferner gehören zu hohen alkalischen Phosphatasewerten auch hohe Prozentwerte von Normomorphie.
Dieses Ergebnis trifft in geringerem Maße auch für die Beziehung zwischen saurer Phosphatase und der Konfiguration der Spermien in Abb. 19 zu. Der errechnete Korrelationskoeffizient ist $r = +0,3249$.

6.3. Korrelation zwischen Spermiogrammparametern bei Oligozoospermie

6.3.1. Alkalische und saure Phosphatase

In Abb. 20 wurden die Phosphatasewerte in Korrelation zueinander graphisch dargestellt. Wie aus der Punkteanordnung zu ersehen ist, gehören, von wenigen Ausnahmen abgesehen, höhere saure und höhere alkalische Werte zusammen und umgekehrt. Es besteht eine positive Korrelation von $r = + 0{,}480$.
Die Regressionsgleichungen lauten:

a) saure Ph. = 442,34 + (4,057 x alk. Ph.)
b) alk. Ph. = 49,63 + (0,058 x saure Ph.)

6.3.2. Phosphatase und pH-Wert

Die Ergebnisse der pH-Wert- und der alkalischen Phosphatase-Bestimmung sind in der Abb. 21 graphisch dargestellt. Man erkennt eine unregelmäßige Verteilung, bei der zu hohen Phosphatasewerten auch Meßpunkte mit niedrigem pH-Wert gehören und umgekehrt. Der errechnete Korrelationskoeffizient beträgt $r = - 0{,}437$.
Der Vergleich der sauren Phosphatase mit dem pH-Wert ergab einen Korrelationskoeffizienten von $r = - 0{,}701$; r ist damit hochsignifikant von Null verschieden. Dies verdeutlicht auch die graphische Darstellung, bei der zu hohen pH-Werten immer niedrige saure Phosphatasewerte und umgekehrt gehören.

6.3.3. Phosphatase und Spermienanzahl

In den Abbildungen 23 und 24 wurden die alkalische und die saure Phosphatase gegen die Anzahl Spermien in einem Milliliter Ejakulat graphisch aufgetragen. In der Abb. 23 errechneten wir eine geringe positive Korrelation mit dem

Wert $r = + 0{,}127$.
Für den Vergleich mit der sauren Phosphatase betrug $r = + 0{,}0172$.

6.3.4. Phosphatase und Initial-Fruktose

Die alkalischen (Abb. 25) und die sauren Phosphatasewerte (Abb. 26) wurden mit den Fruktosewerten verglichen. Der Korrelationskoeffizient beträgt in der Abb. 25 $r = - 0{,}626$, und in der Abb. 26 $r = + 0{,}376$.

6.3.5. Phosphatase und Konfiguration

Die Abb. 27 zeigt, daß bei Oligozoospermie die Anzahl der normal konfigurierten Spermien hauptsächlich in einem Bereich von 30 bis 70 % liegt. Von einigen Werten abgesehen, wurden alkalische Phosphataseaktivitäten zwischen 40 und 150 mU/ml gemessen. Der Korrelationskoeffizient hat einen Wert für $r = + 0{,}1168$. Bei der sauren Phosphatase wurden Aktivitäten in einem Bereich von 18 bis 2440 U/ml bestimmt. Auch hier konnte eine geringe positive Korrelation ($r = + 0{,}2638$) festgestellt werden (siehe Abb. 28).

6.4. Korrelation zwischen Spermiogrammparametern bei Oligozoospermie + Asthenospermie

6.4.1. Alkalische und saure Phosphatase

Die Phosphatasewerte von 15 Ejakulaten mit dem Zustandsbild der Oligozoo- und Asthenospermie wurden in Abb. 29 graphisch dargestellt.
Von drei Meßwerten abgesehen, weisen die Meßpunkte einen

fast stetigen Anstieg von links unten nach rechts oben auf. (r = 0,1562).
Die Regressionsgleichungen lauten:

a) saure Ph. = 363,92 + (0,8482 x alk. Ph.)
b) alk. Ph. = 44,96 + (0,0288 x saure Ph.)

6.4.2. Phosphatase und pH-Wert

In der Abb. 30 ist die Korrelation zwischen alkalischer Phosphatase und dem pH-Wert bei 15 Proben mit Oligozoo- und Asthenospermie graphisch dargestellt. Der größte Teil der Meßwerte liegt bei pH 7,2 und einem alkalischen Phosphatasebereich von 20 bis 150 mU/ml. Der Korrelationskoeffizient r = + 0,502. Bei der sauren Phosphatase liegen die Werte in einem Bereich von 80 bis 880 U/ml. Der errechnete Koeffizient r = - 0,255 (siehe Abb. 31).

6.4.3. Phosphatase und Spermienanzahl

Aus den Abbildungen 32 und 33 ist zu ersehen, daß auch bei sehr niedrigen Spermiendichten in der Norm liegende Phosphatasewerte gemessen wurden. Eine geringe positive Korrelation mit der alkalischen Phosphatase wurde in der Abb. 32 (r = + 0,1089) und eine negative mit der sauren Phosphatase wurde in der Abb. 33 (r= - 0,314) errechnet.

6.4.4. Phosphatase und Initial-Fruktose

In den Abbildungen 34 und 35 stellt sich eine unregelmäßige Verteilung der Meßwerte dar. Der größte Teil der Werte liegt in einem Bereich von 20 bis 65 mU/ml für die alkalische und von 160 bis 720 U/ml für die saure Phosphatase. Der Korrelationskoeffizient beträgt

in der Abb. 34 -0,1482 und in der Abb. 35 + 0,08536.

6.4.5. Phosphatase und Konfiguration

Von einigen Werten abgesehen liegen die alkalischen Phosphatasewerte bei Oligozoospermie plus Asthenospermie in einem Bereich von 20 bis 70 mU/ml. Die dazugehörigen Werte betragen 40 bis 70 % (siehe Abb. 36).
Eine geringe positive Korrelation wurde mit r = + 0,1261 bestimmt.
Im Gegensatz dazu sind die Werte in der Abb. 37 über den gesamten Bereich verstreut. Der Korrelationskoeffizient beträgt hier r = + 0,08657.

6.5. Ergebnisse der Phosphatase-Bestimmungen bei den übrigen Diagnosen

In der Tabelle 3 wurden alle übrigen festgestellten Diagnosen mit dem dazugehörenden Schlüssel aufgeführt. Die Werte der Phosphatasen, der Fruktose, des pH und der Zählung der Spermien sind in der Tabelle 2 zusammengefaßt. Die Spermaproben sind nach ihrem Eingang ins Fertilitätslabor fortlaufend numeriert worden.
Auf die Ergebnisse bei den Diagnosen IV und V kann wegen zu geringer Probenanzahl nicht eingegangen werden.

6.5.1. Ergebnisse bei Azoospermie

Die Phosphatasewerte zeigen eine Schwankungsbreite von 22 bis 86 mU/ml für die alkalische und von 7 bis 672 U/ml

für die saure Phosphatase auf.
Bei den vier Spermaproben mit Azoospermie wurden Fruktosewerte zwischen 1884 und 4404 µg/ml und pH-Werte zwischen 7,2 und 8,0 gemessen.

6.5.2. Ergebnisse von Asthenospermie bei Samenwegsinfektion

Von den 81 untersuchten Patienten wurde bei zehn untersuchten Ejakulaten diese Diagnose gestellt. Aus der Tabelle 2 können die gemessenen Werte ersehen werden.

6.5.3. Darstellung der Phosphatasen in Bezug zu verschiedenen Diagnosen

Die Mittelwerte der Phosphatasen bei den Diagnosen Normozoo-, Oligozoo-, Oligozoo- plus Astheno-, Astheno- (bei Infektion) und Azoospermie wurden als Balkendiagramm in Abb. 38 dargestellt.
Die Werte für Normozoo- und Oligozoospermie entsprachen sich in etwa. Die niedrigsten Durchschnittswerte fanden wir bei Oligozoo- plus Asthenospermie.

6.6. Ergebnisse der Untersuchungen im Seminalplasma von Split-Ejakulaten

Die Meßwerte der Fraktionen I, II und III sind aus der Tabelle 4 zu entnehmen.
Beim Vergleich der Fraktionen untereinander ergab sich eine fast 50 %-ige Abnahme der Phosphatasewerte pro Fraktion (I-II-III).
Dies ist besonders deutlich bei der alkalischen Phosphatase der Nr. 6, 7 und 11.
Die Fruktose-Werte nehmen dagegen in dieser Reihenfolge

um fast 50 % zu.
Auch der pH-Wert nimmt in geringem Maße von Fraktion I nach Fraktion III zu.
Mit der Abnahme der Spermienanzahl bis zur Fraktion III ist im umgekehrten Verhältnis eine Zunahme der im Nativpräparat beobachteten Unbeweglichkeit der Spermien zu beobachten.
Dies gilt sowohl für die Untersuchungen bei Oligozoospermie, als auch bei Normozoospermie.

7. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Im Gegensatz zu GUTMAN und GUTMAN (1941), die keine nennenswerten alkalischen Phosphatase-Aktivitäten im Seminalplasma fanden, konnten wir, ebenso wie MOON und BUNGE (1968) Aktivitäten feststellen.
Trotz einer nicht unerheblichen Schwankungsbreite, sowohl der sauren, als auch der alkalischen Phosphatase, wiesen einige Meßwerte eine positive Korrelation auf.
Dieser Zusammenhang besteht sowohl bei Normozoo-, als auch bei Oligozoospermie und abgesehen von drei Patienten auch bei Oligozoo- plus Asthenospermie.
Da die saure Phosphatase (SAP) bekanntermaßen aus der Prostata und nach der Abhandlung von BERN (1949) die alkalische Phosphatase (ALP) hauptsächlich vom Sekret der Seminal-Bläschen und ebenfalls aus der Prostata stammt, ist dieses Ergebnis nicht überraschend.

Eine deutliche negative Korrelation konnte bei Normozoospermie und besonders bei Oligozoospermie zwischen der sauren Phosphatase und dem pH-Wert errechnet werden.

Besonders die SAP, aber auch der pH-Wert des Seminalplasmas ist vom Funktionszustand der Prostata abhängig. Nach RABOCH und SKACHOVA (1965) besteht keine statistisch erfaßbare Signifikanz zwischen dem Ejakulatvolumen und dem pH-Wert. Wahrscheinlich ist dies auf das unterschiedliche Mischungsverhältnis zwischen dem alkalischen Bläschendrüsen- und dem sauren Prostatasekret zurückzuführen. In diesem Zusammenhang müssen auch die unterschiedlichen Korrelationen zwischen der ALP und dem pH-Wert bei verschiedenen Diagnosen gesehen werden.

Für den Zusammenhang zwischen den Phosphatasen und der Spermienanzahl / ml konnten wir bei keiner der vorliegenden klinischen Diagnosen eine bedeutende Korrelation feststellen. Dies ist in Übereinstimmung mit den Studien von LAZOWSKI (1966) bzw. VAISHWANAR und BHYANKAR (1971), die keine Korrelation von saurer Phosphataseaktivität mit der Anzahl und dem Zustand der Spermien fanden. Andererseits berichten EL-RIDI et al (1962) von einer positiven Korrelation der ALP mit der Spermienanzahl.
Von diesen widersprüchlichen Ergebnissen ist lediglich die Korrelation zwischen der Motilität und den Phosphatasen erklärbar, da nach GAIROLA und BALLERIO (1961) die Ernährung der Spermien und insbesondere die Monosacharide, die zur Energiegewinnung und damit zur Bewegung der Spermien gebraucht werden, von dem Phosphatasegehalt des Seminalplasmas abhängig sind.

MOON und BUNGE (1968) konnten keine signifikante Korrelation zwischen der Fruktose (mg/100 ml) und der alkalischen Phosphataseaktivität des Gesamtejakulates finden. Aus der in ihrer Studie aufgeführten Tabelle kann man aber bei Zunahme der Fruktose-Werte eine fast konstante Abnahme der Mittelwerte für die ALP (U/ml) ersehen.

Unsere Ergebnisse bestätigen diese Aussage. Wohl konnten wir bei allen untersuchten Gruppen eine negative Korrelation errechnen, doch sind die Werte so gering, daß von keiner Signifikanz der Korrelation zwischen ALP und Fruktose gesprochen werden kann.
Für die Beziehung zwischen SAP und Fruktose konnte LAZOWSKI (1966) einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,89$ bei Normozoospermie, von $r = 0,64$ bei Oligozoospermie I° und $r = 0,79$ bei Oligozoospermie II° errechnen.
Unsere Ergebnisse konnten dies nicht voll bestätigen. So errechneten wir einen Wert für $r = - 0,44$ bei Normozoospermie, für $r = - 0,376$ bei Oligozoospermie. Bei der Diagnose Oligozoospermie plus Asthenospermie konnten wir sogar einen sehr geringen positiven Wert für $r = + 0,0854$ bestimmen.

Eine mögliche Erklärung ist wahrscheinlich in der geringen Anzahl der Proben (15) und der starken Schwankungsbreite zu finden.

Die Motilität und die Konfiguration der Spermien spiegeln ein Zustandsbild der Spermatozoen wider. In diesem Sinn erlangt die von uns festgestellte Abnahme der Korrelation, von dem klinischen Zustandsbild der Normozoospermie, bis zu einem Wert von r gegen Null bei einer Oligozoo- plus Asthenospermie, eine gewisse Bedeutung. Dies gilt im besonderen Maße für den Vergleich der ALP mit dem Prozentgehalt an normal konfigurierten Spermien.
Für die Deutung dieser Ergebnisse scheint die vorher formulierte Feststellung nach GAIROLA und BALLERIO (1961) maßgeblich zu sein. Als Hypothese

könnte man für den verringerten Phosphatasegehalt einen größeren Anteil an nicht der Norm entsprechenden Spermien verantwortlich machen. Durch eine anormale Spermienzellwand könnte sich der Phosphataseverbrauch ebenfalls atypisch vermindern oder vermehren. Eine andere mögliche Erklärung bietet sich nach Betrachtung der Abb. 38 an. Liegen bei einer Oligozoospermie normale Phosphataseaktivitäten vor, so ist der Anteil an normal beweglichen Spermien über 60 %; besteht aber eine zu geringe Phosphataseaktivität, so sinkt der Anteil unter 60 % und man spricht von einer Oligozoo- plus Asthenospermie.
Erklärungsmöglichkeit: Durch zu niedrige Phosphatasewerte im Seminalplasma wird die Ernährung und damit die Beweglichkeit der Spermien gestört.

LEVIN und BEER (1973) bestimmten neben anderen biochemischen Parametern auch die Phosphataseaktivität im Split-Ejakulat. Dabei fanden sie eine deutliche Abnahme der sauren Phosphatase von Fraktion I zu Fraktion II (bei Splitterung in zwei Fraktionen). Wir fanden entsprechende Ergebnisse, die sogar eine fast regelmäßige Abnahme beider Phosphatasen um ca. 50 % von Fraktion zu Fraktion aufwiesen. Da die erste Fraktion hauptsächlich aus Prostatasekret besteht und das Sekret anteilmäßig in den nächsten Fraktionen abnimmt, kann durch die gleichzeitige Abnahme der ALP die Feststellung, daß die ALP auch aus der Prostata stammt, als gesichert angenommen werden.

Von diagnostischer Bedeutung können die sehr niedrigen ALP-Werte beim Split-Ejakulat der Patienten mit Oligozoospermie sein. Auch sie zeigen eine fast regelmäßige Halbierung der Phosphatasewerte in den Fraktionen.

8. ZUSAMMENFASSUNG

Durch den Merckotest-Reagenziensatz und durch die Einfrierbarkeit von Seminalplasma mit der dadurch möglichen Sammelbestimmung von Phosphatasen, eignen sich die Phosphatasebestimmungen im Gesamtejakulat auch für das Routinelabor.

Wir konnten ferner durch unsere Untersuchungen zeigen, daß ein Zusammenhang zwischen den Phosphataseaktivitäten und einigen Sperma-Parametern besteht. Dies ist besonders deutlich bei dem Vergleich der SAP mit dem pH-Wert von Seminalplasma bei Normo- und Oligozoospermie.
Der Vergleich der ALP mit der Konfiguration und mit der Beweglichkeit der Spermien, erbrachte einen gewissen Zusammenhang zwischen diesen Parametern.

Durch die anfangs erwähnten Schwierigkeiten bei der Split-Ejakulat-Gewinnung und den damit verbundenen unterschiedlichen Mengenverhältnissen der einzelnen Fraktionen, kommen diese Ejakulate für eine Routinebestimmung der Phosphatasen nicht in Betracht. Die sehr deutlichen Unterschiede der Phosphataseaktivitäten in den einzelnen Fraktionen bei Normo- und Oligozoospermie können durch die zu geringe Probenanzahl nicht vollständig beurteilt werden.
Die Split-Ejakulate eignen sich für spezielle Problemstellungen, da durch die fraktionierte Ejakulatgewinnung eine wesentlich differenziertere Aussage über den Zustand der Prostata oder der Bläschendrüsen gemacht werden kann, als dies beim Gesamtejakulat möglich ist.

Abb. 1
Eichkurve für die Bestimmung der sauren Phosphatase im Seminalplasma

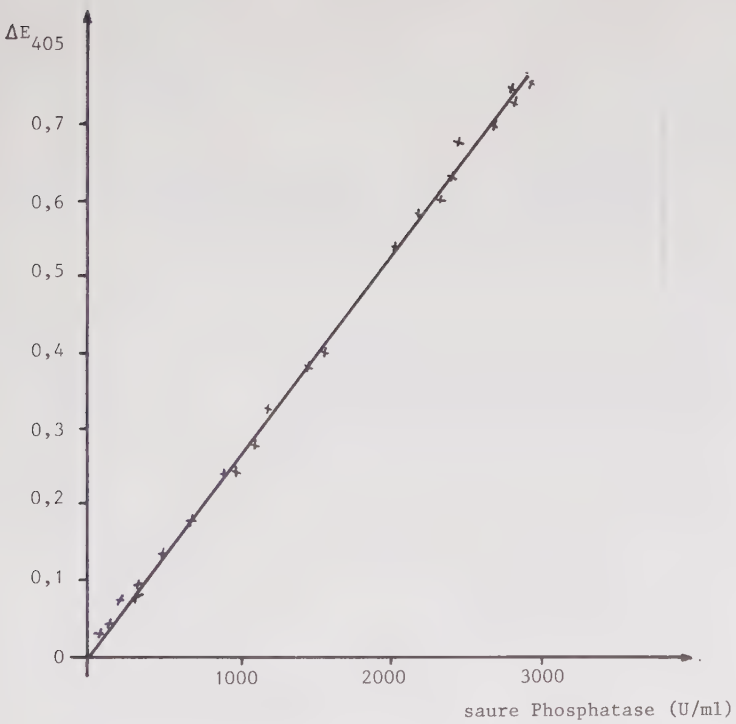
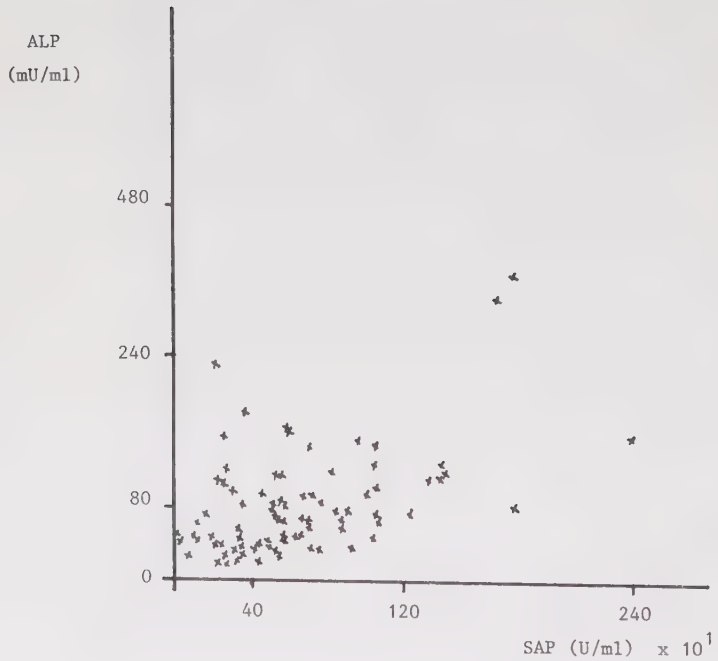


Abb. 2
Korrelation zwischen SAP und ALP ohne diagnostische Differenzierung



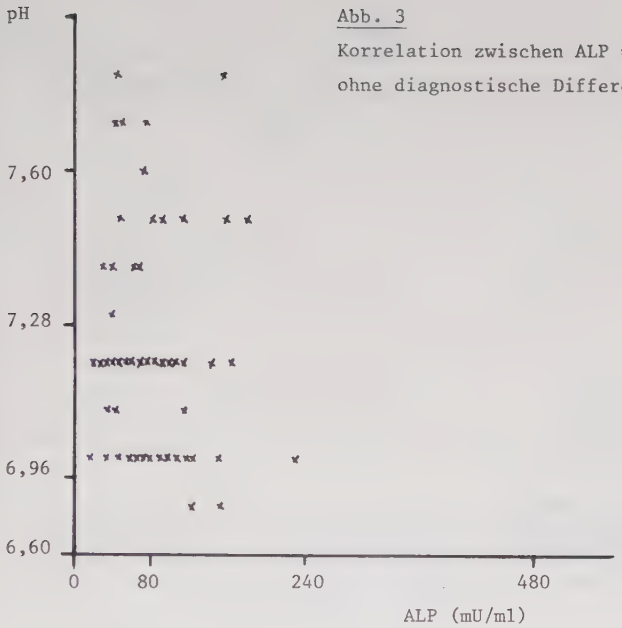


Abb. 3
Korrelation zwischen ALP und pH-Wert
ohne diagnostische Differenzierung

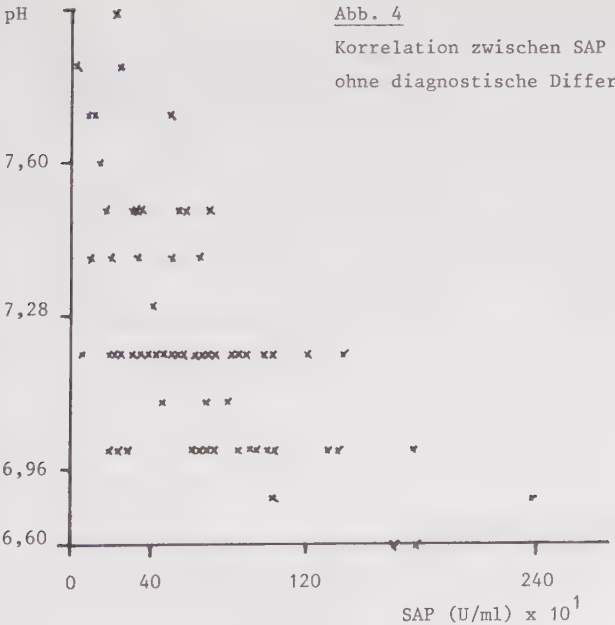


Abb. 4
Korrelation zwischen SAP und pH-Wert
ohne diagnostische Differenzierung

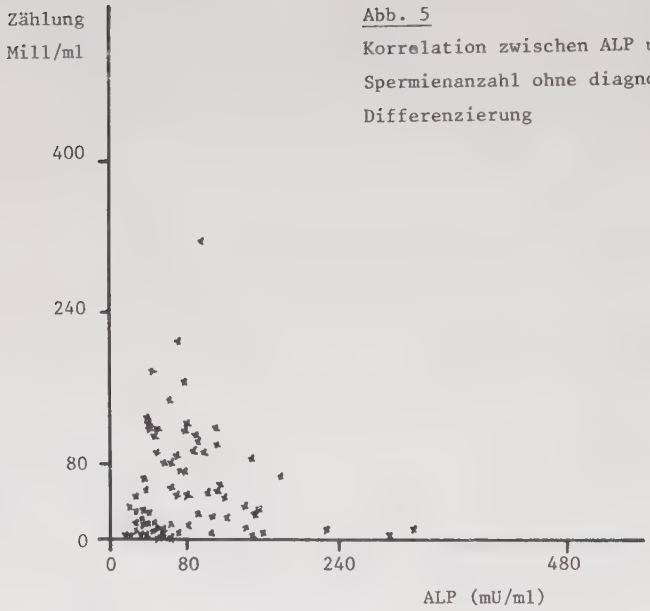


Abb. 5
Korrelation zwischen ALP und der Spermienanzahl ohne diagnostische Differenzierung

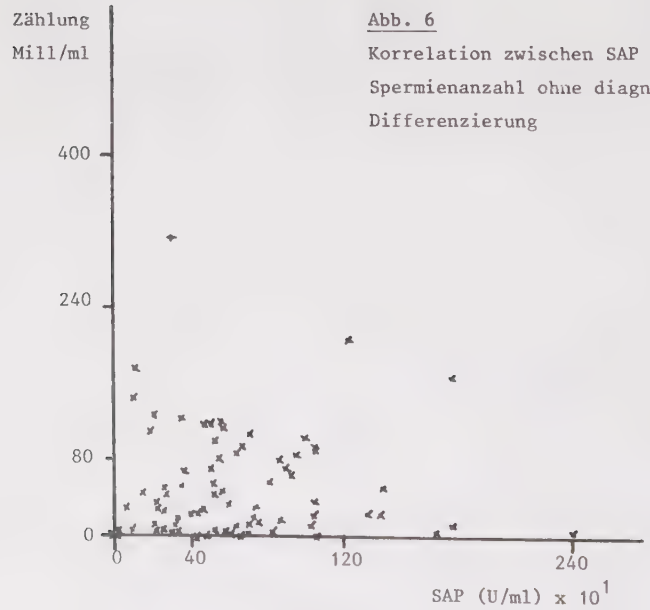


Abb. 6
Korrelation zwischen SAP und der Spermienanzahl ohne diagnostische Differenzierung

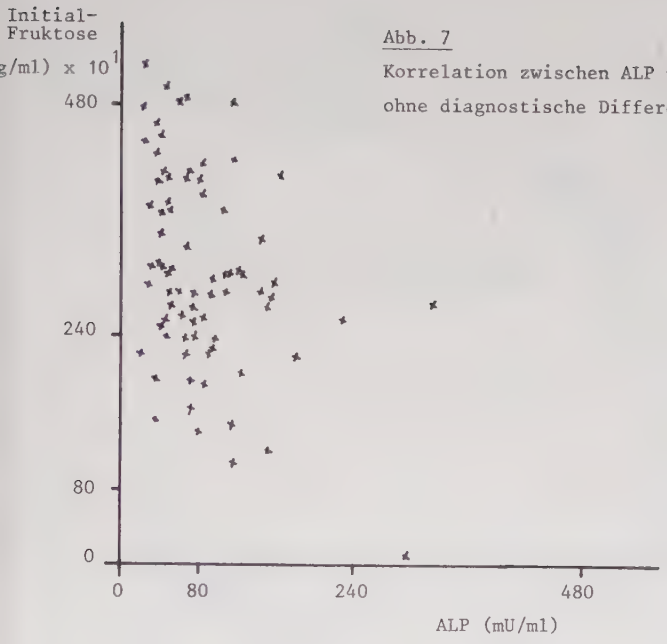


Abb. 7

Korrelation zwischen ALP und Fruktose ohne diagnostische Differenzierung

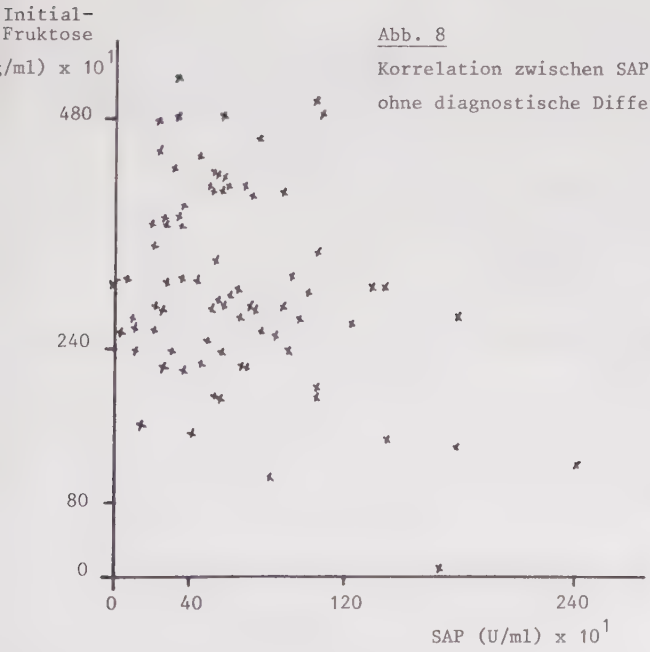


Abb. 8

Korrelation zwischen SAP und Fruktose ohne diagnostische Differenzierung

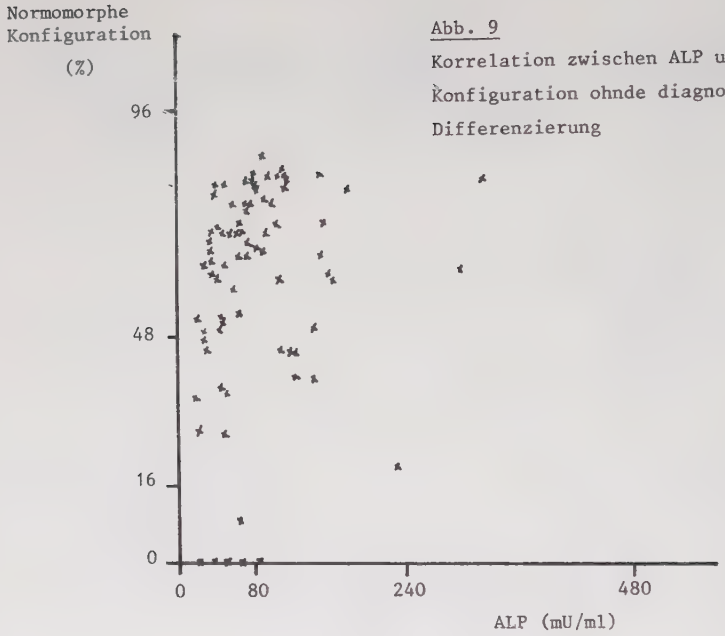


Abb. 9
Korrelation zwischen ALP und der Konfiguration ohnde diagnostische Differenzierung

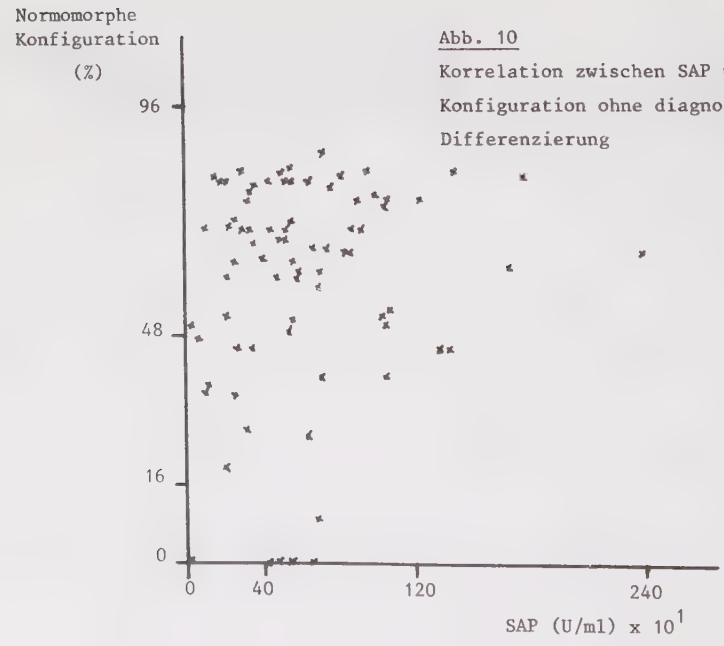


Abb. 10
Korrelation zwischen SAP und der Konfiguration ohne diagnostische Differenzierung

Abb. 11
Korrelation zwischen SAP und ALP bei Spermaproben mit Normozoospermie

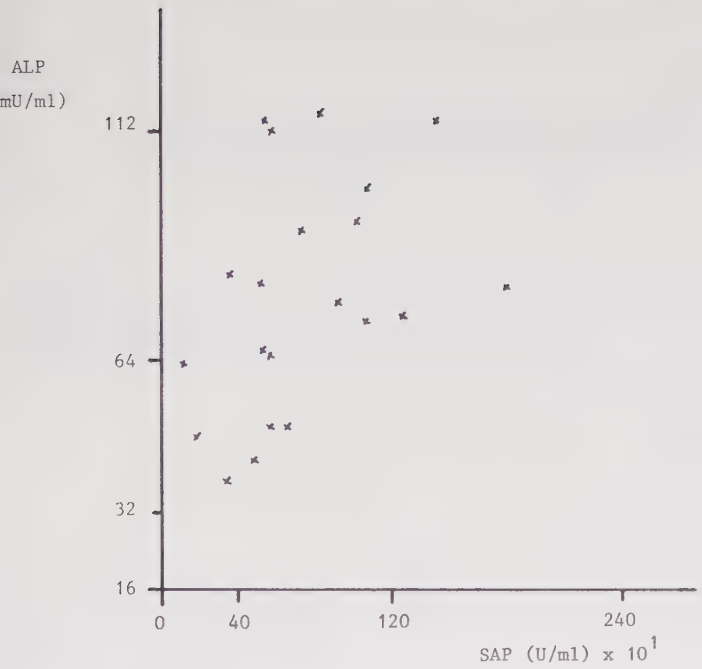


Abb. 12 Korrelation zwischen ALP und pH-Wert bei Spermaproben mit Normozoospermie

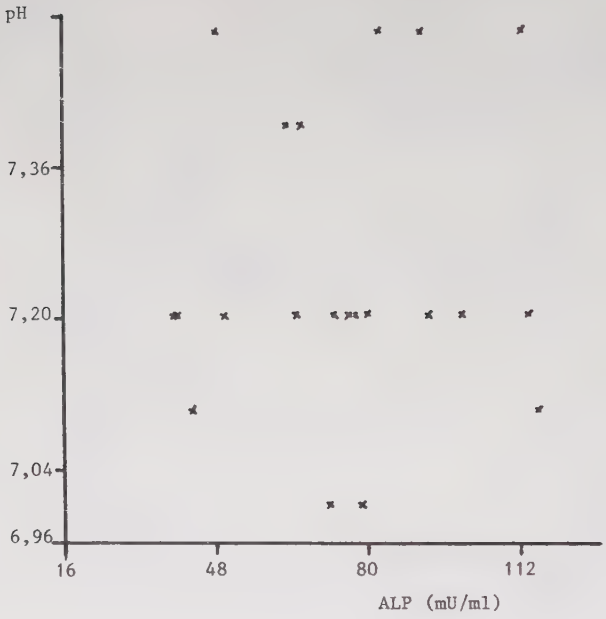
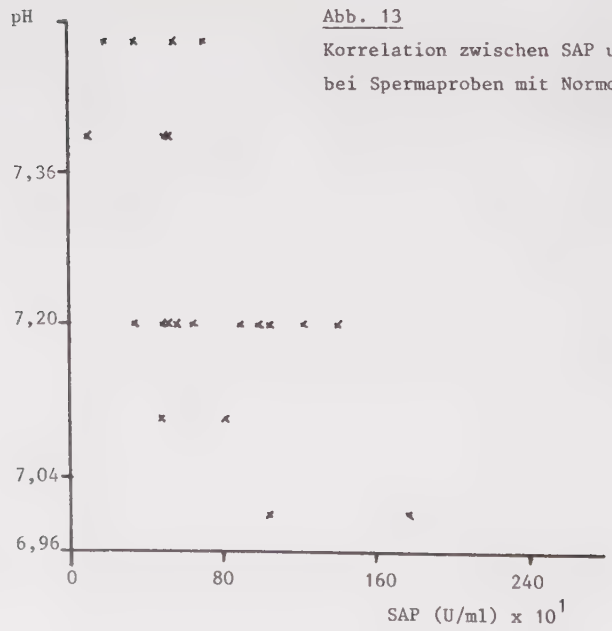


Abb. 13
Korrelation zwischen SAP und pH-Wert bei Spermaproben mit Normozoospermie



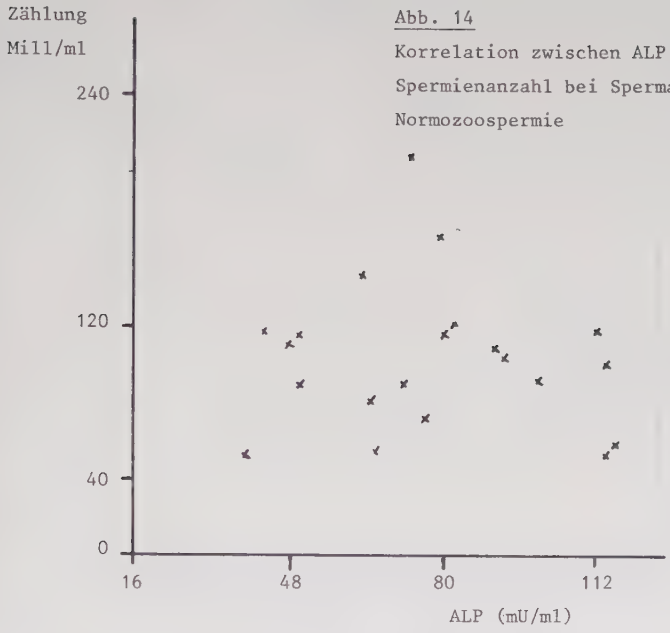


Abb. 14
Korrelation zwischen ALP und der Spermienanzahl bei Spermaproben mit Normozoospermie

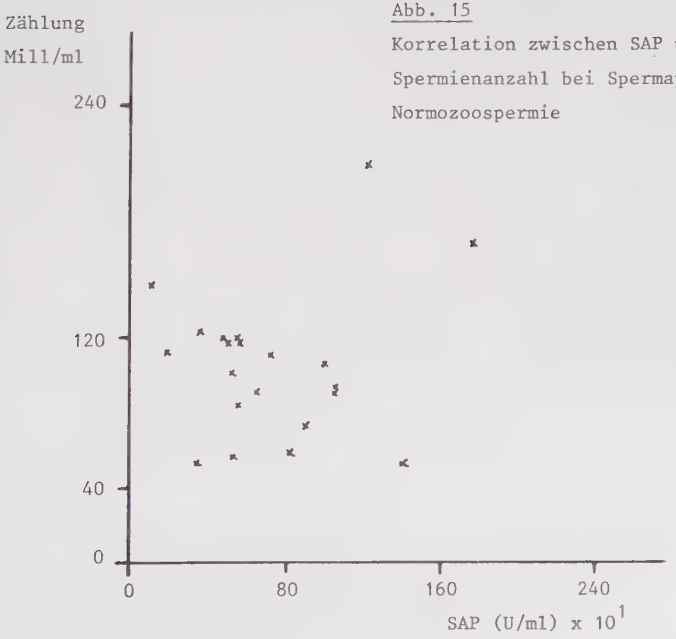


Abb. 15
Korrelation zwischen SAP und der Spermienanzahl bei Spermaproben mit Normozoospermie

Abb. 16 Korrelation zwischen ALP und Fruktose bei Spermaproben mit Normozoospermie

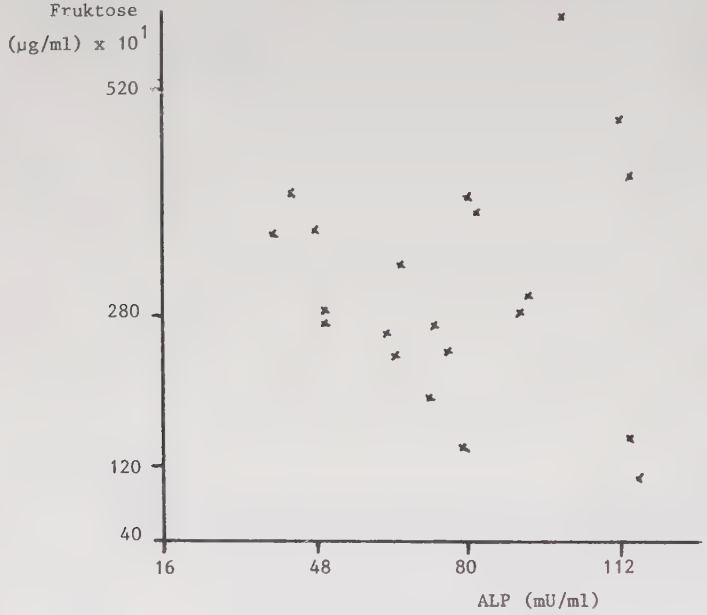
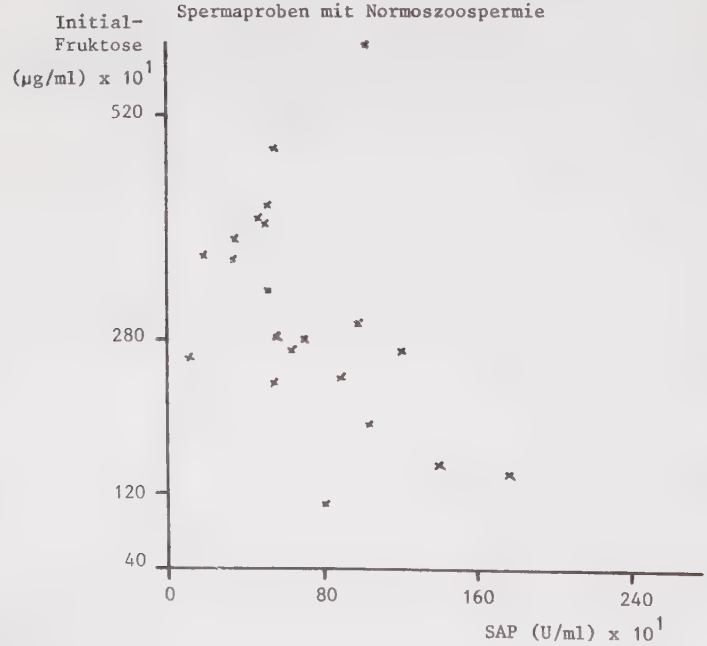


Abb. 17 Korrelation zwischen ALP und Fruktose bei Spermaproben mit Normoszoospermie



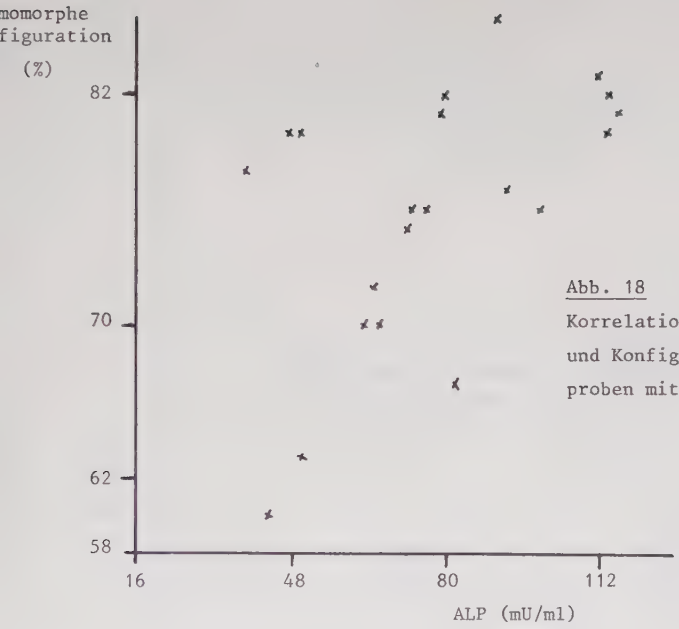


Abb. 18
Korrelation zwischen ALP und Konfiguration bei Spermaproben mit Normozoospermie

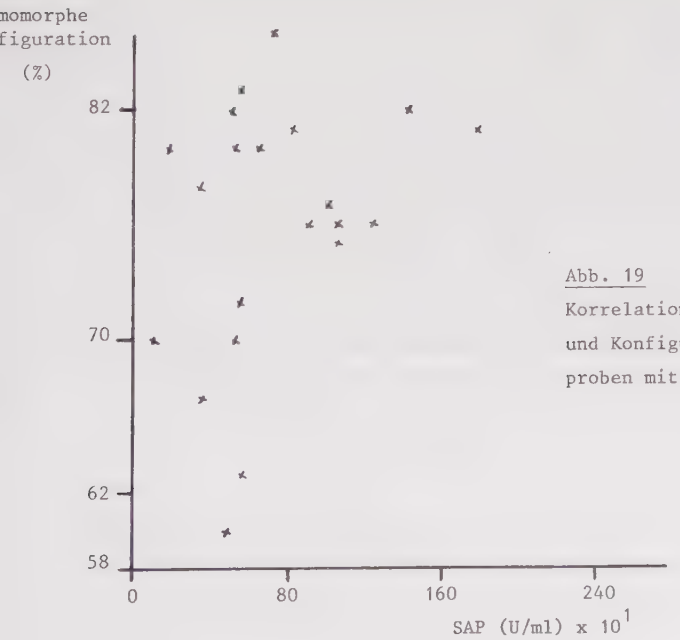
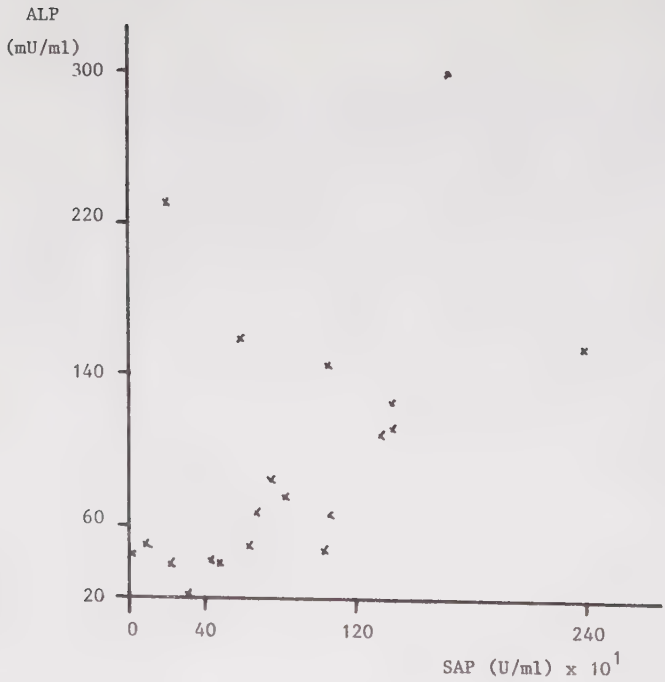


Abb. 19
Korrelation zwischen SAP und Konfiguration bei Spermaproben mit Normozoospermie

Abb. 20

Korrelation zwischen SAP und ALP bei Spermaproben mit Oligozoospermie



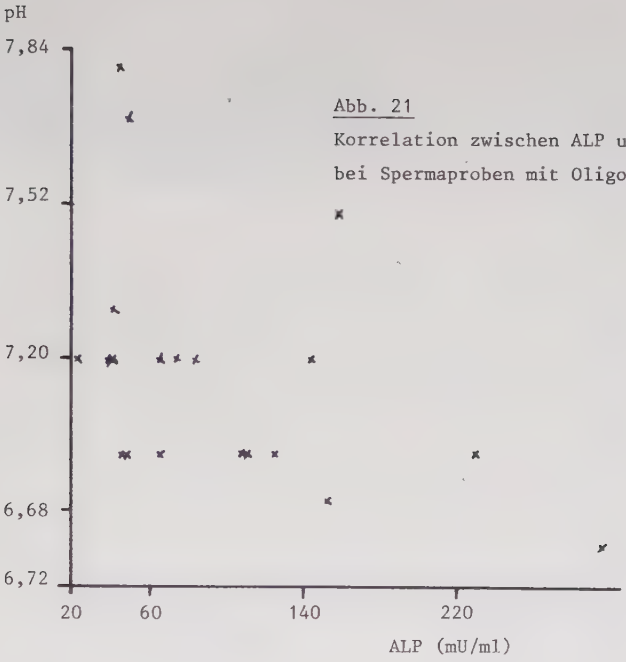


Abb. 21
Korrelation zwischen ALP und pH-Wert bei Spermaproben mit Oligozoospermie

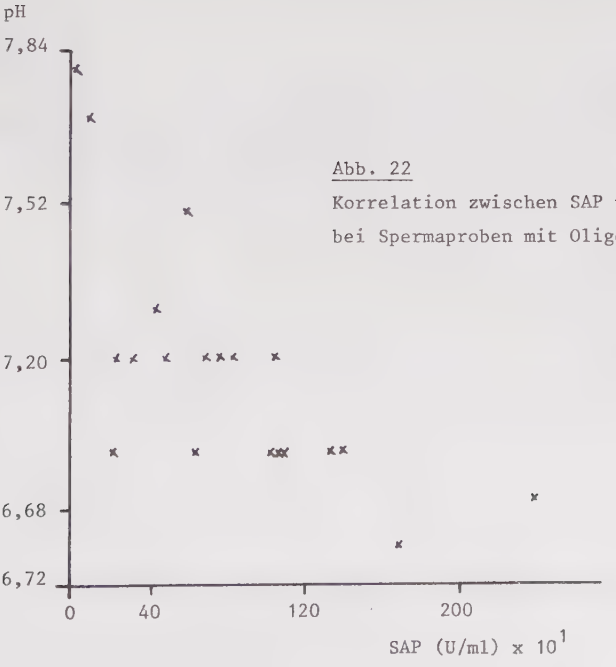


Abb. 22
Korrelation zwischen SAP und pH-Wert bei Spermaproben mit Oligozoospermie

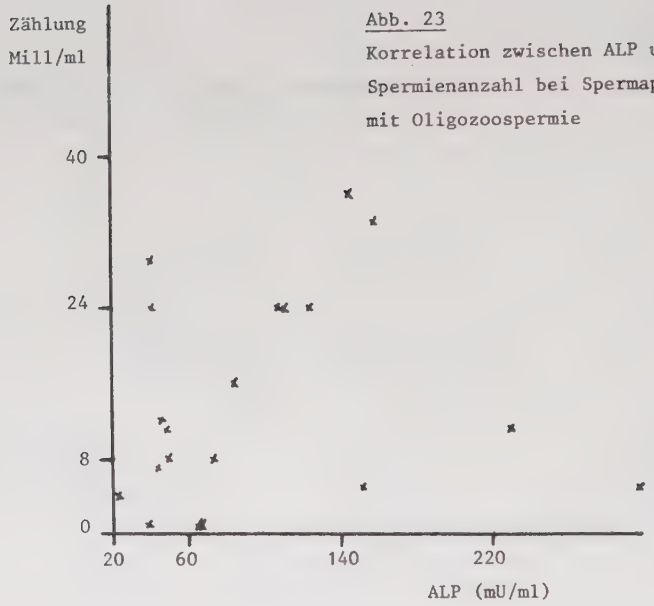
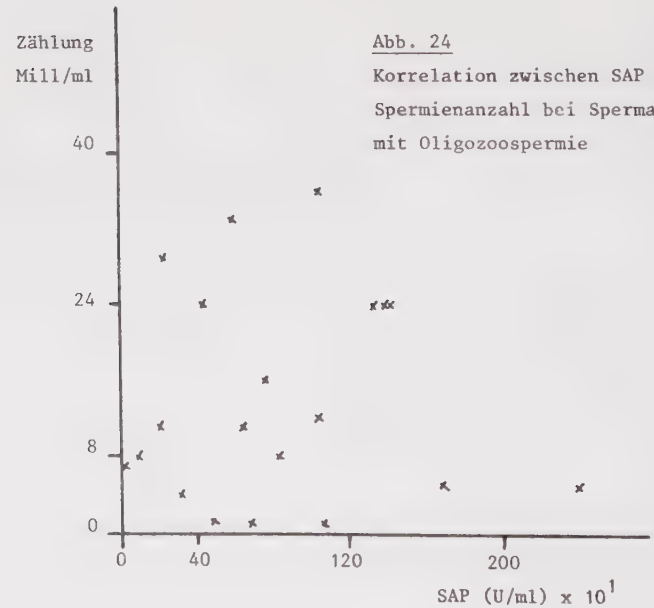


Abb. 24
Korrelation zwischen SAP und der Spermienanzahl bei Spermaproben mit Oligozoospermie



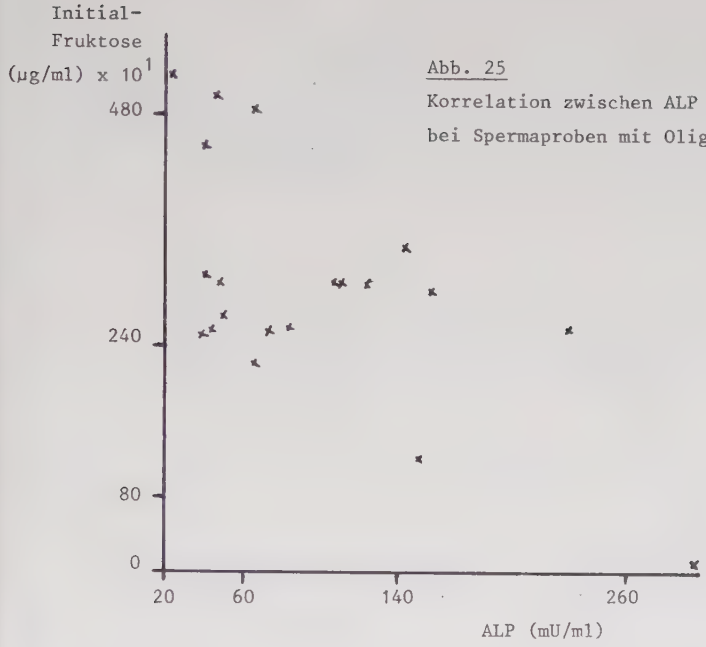


Abb. 25
Korrelation zwischen ALP und Fruktose bei Spermaproben mit Oligozoospermie

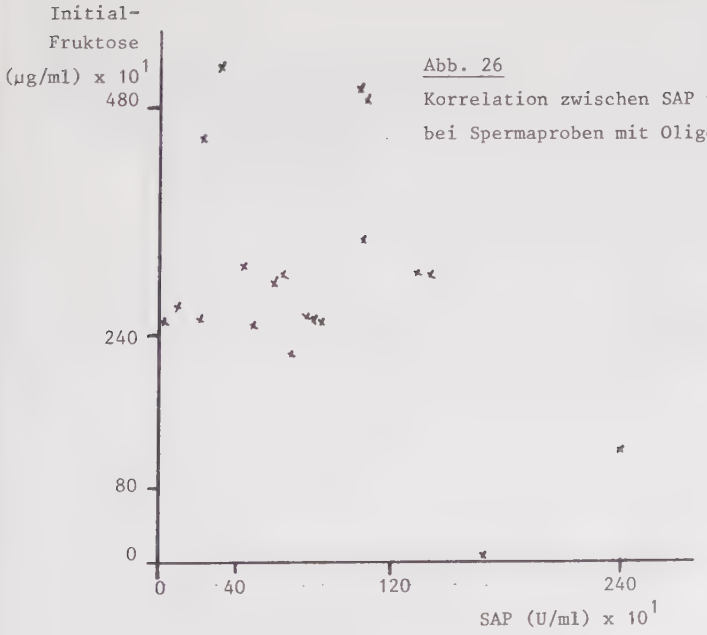


Abb. 26
Korrelation zwischen SAP und Fruktose bei Spermaproben mit Oligozoospermie

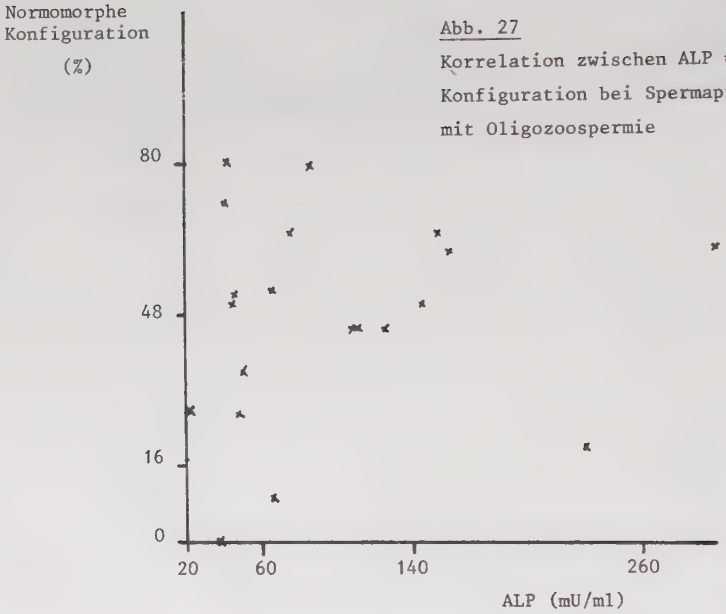


Abb. 27
Korrelation zwischen ALP und der Konfiguration bei Spermaproben mit Oligozoospermie

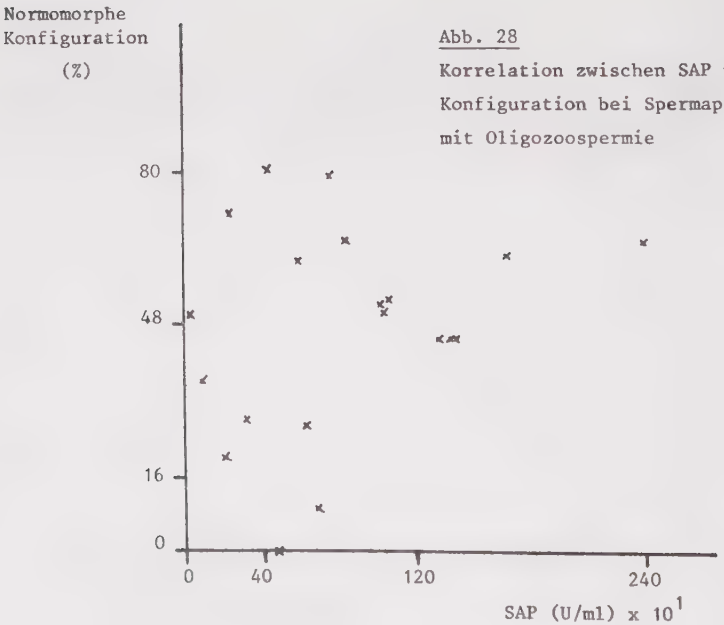
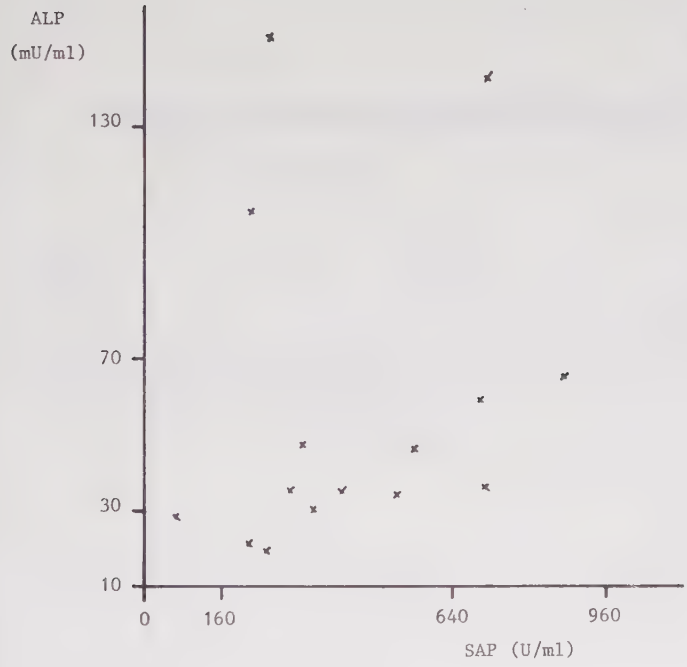


Abb. 28
Korrelation zwischen SAP und der Konfiguration bei Spermaproben mit Oligozoospermie

Abb. 29

Korrelation zwischen SAP und ALP bei Spermaproben mit Oligozoo- und Asthenospermie



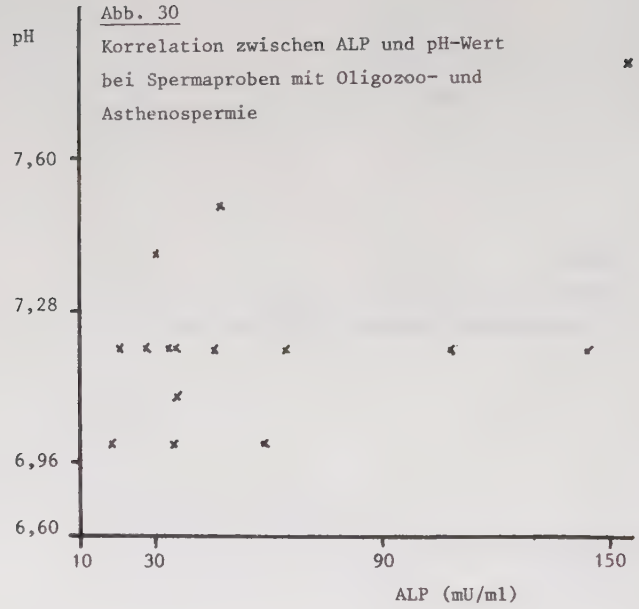


Abb. 30
Korrelation zwischen ALP und pH-Wert bei Spermaproben mit Oligozoo- und Asthenospermie

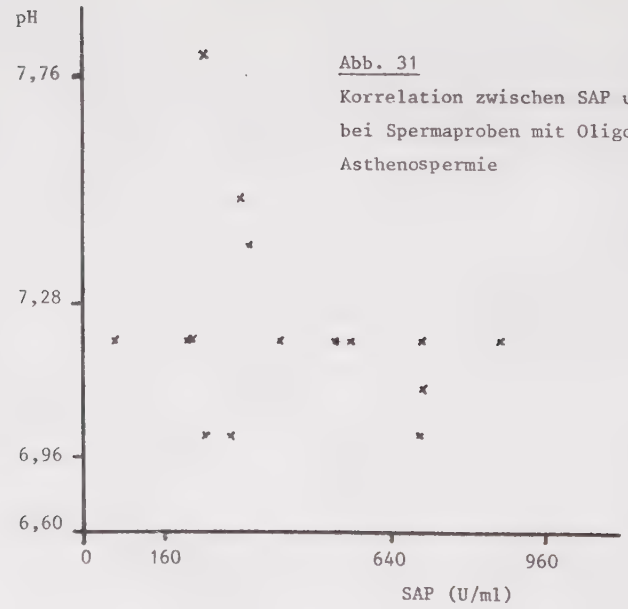


Abb. 31
Korrelation zwischen SAP und pH-Wert bei Spermaproben mit Oligozoo- und Asthenospermie

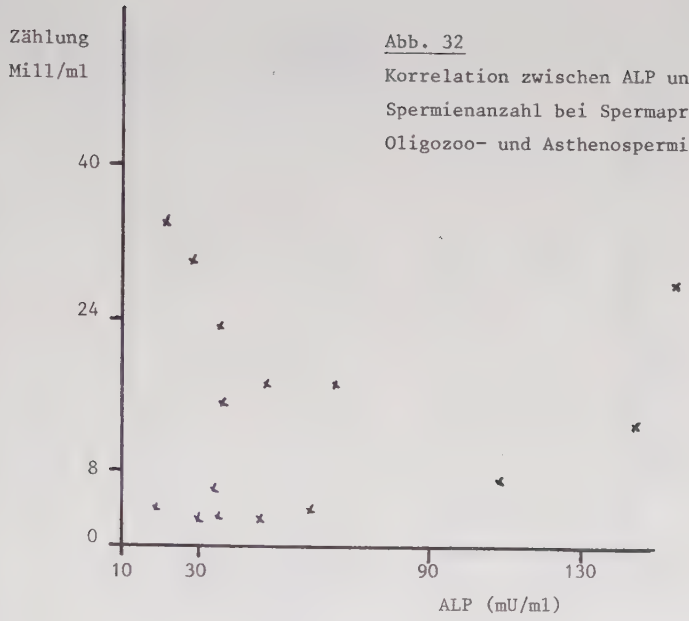


Abb. 32
Korrelation zwischen ALP und der Spermienanzahl bei Spermaproben mit Oligozoo- und Asthenospermie

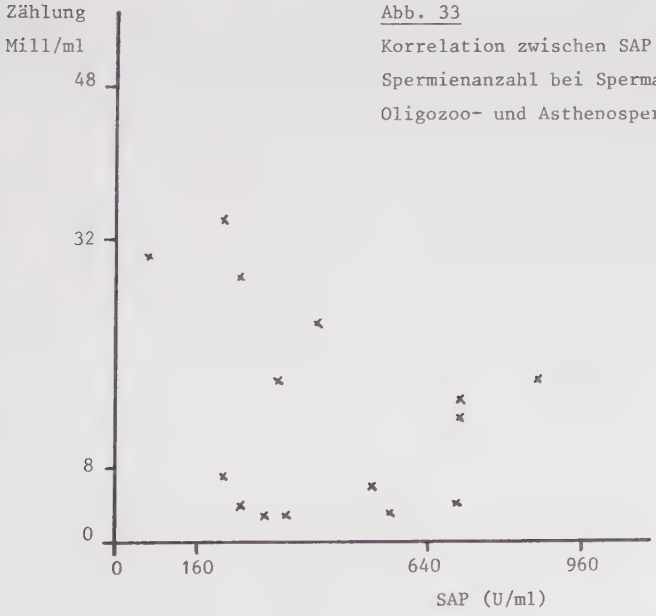


Abb. 33
Korrelation zwischen SAP und der Spermienanzahl bei Spermaproben mit Oligozoo- und Asthenospermie

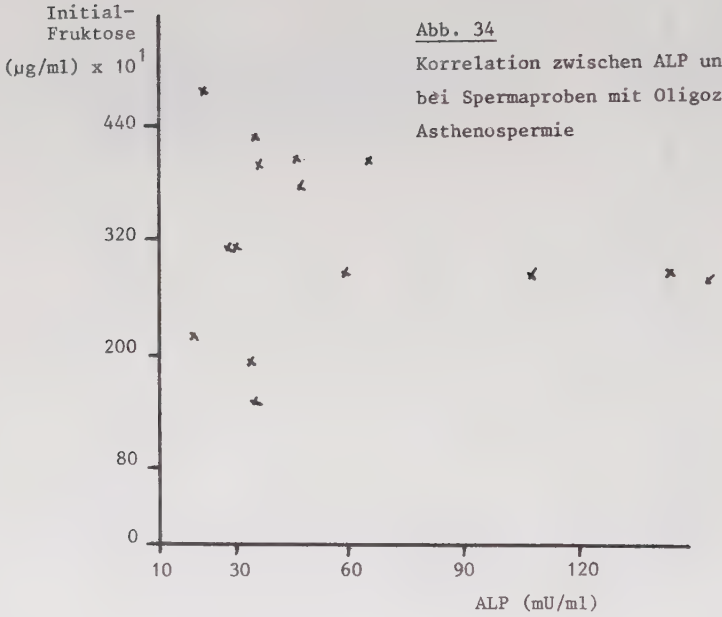


Abb. 34
Korrelation zwischen ALP und Fruktose bei Spermaproben mit Oligozoo- und Asthenospermie

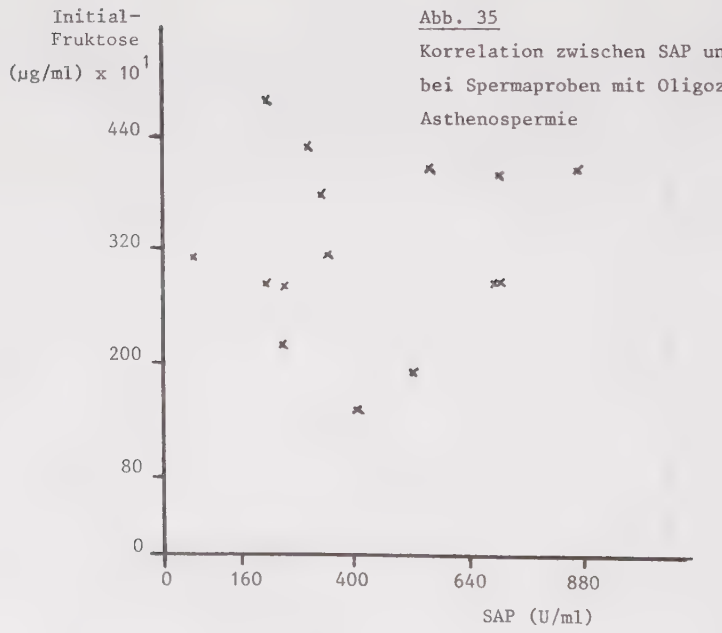


Abb. 35
Korrelation zwischen SAP und Fruktose bei Spermaproben mit Oligozoo- und Asthenospermie

Abb. 36

Korrelation zwischen ALP und der Konfiguration bei Spermaproben mit Oligozoo- und Asthenospermie

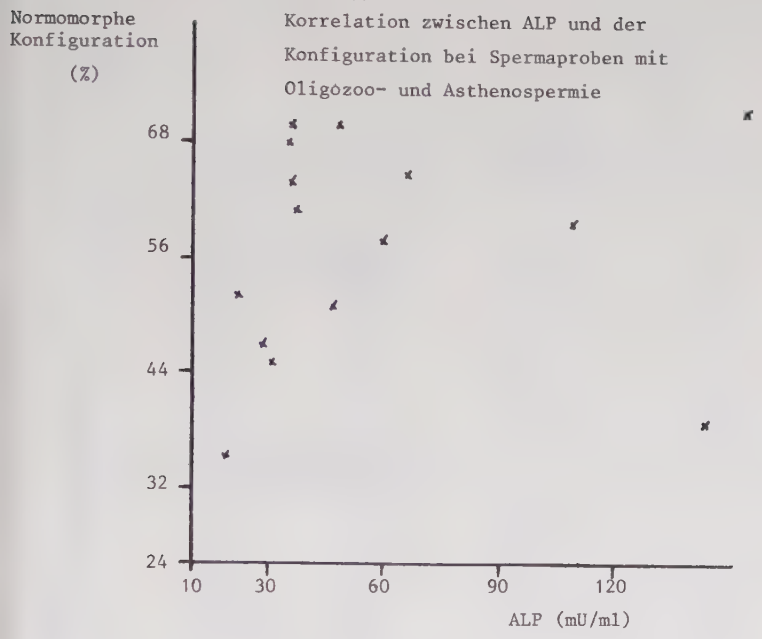


Abb. 37

Korrelation zwischen SAP und der Konfiguration bei Spermaproben mit Oligozoo- und Asthenospermie

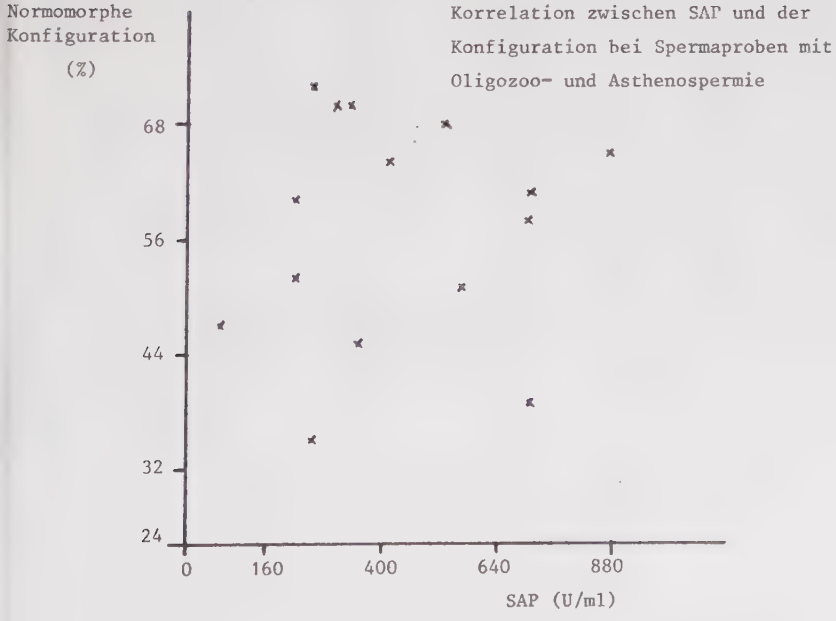


Abb. 38

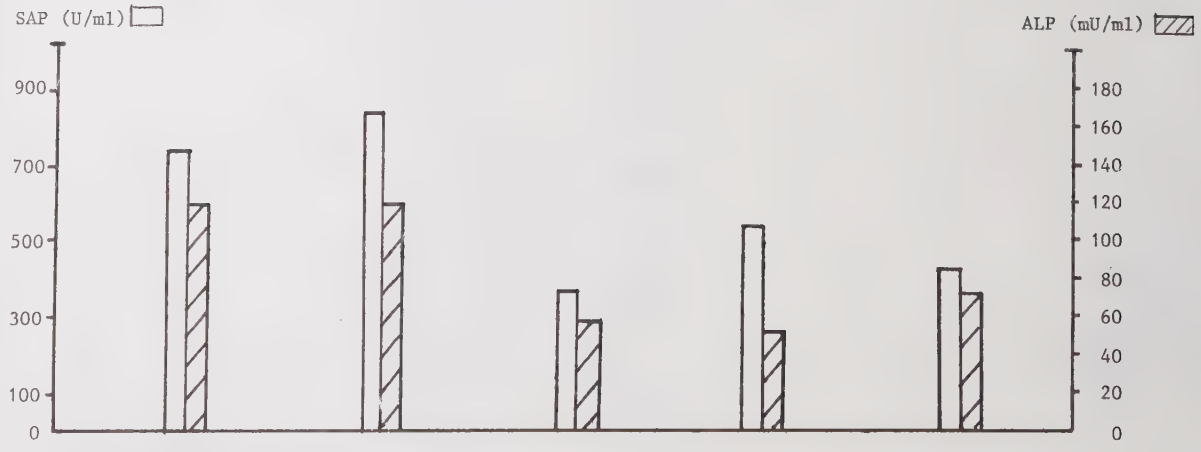

SAP (U/ml)
ALP (mU/ml)
900
700
500
300
100
0
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
Spermienanzahl (Mill/ml)
52-208
1-36
3-34
45-176
0
Diagnosen:
Normozoo-,
Oligozoo-,
Oligozoo- plus Astheno-,
Astheno- (bei Infektion)
Azoospermie
Anzahl der Patienten
n = 21
20
15
10
4

Tabelle 1

Nr.	alk. Phosph. (mU/ml)	sre. Phosph. (U/ml)	Fruktose (µg/ml)	pH	Zählung (Mill/ml)	Menge (ml)
1	163	584	4077	7,2	7	8
2	72	153	1622	7,6	46	6
3	100	1060	5916	7,2	92	4
4	93	450	2260	7,2	27	7
5	40	233	4477	7,2	29	7
24	110	1396	3050	7,0	24	7
25	48	189	3703	7,5	111	4
26	82	356	3869	7,5	122	5
27	158	596	2963	7,5	33	5
28	50	567	2843	7,2	116	5
29	46	1039	4995	7,0	12	11
30	72	1054	1908	7,0	90	6
31	46	563	4055	7,2	3	9
32	50	98	2707	7,7	8	4
33	39	487	2496	7,2	1	7
34	65	1068	4866	7,0	1	4
35	48	640	3041	7,0	11	6
36	108	1338	3050	7,0	24	7
40	124	1399	3050	7,0	24	7
41	86	553	1884	7,2	0	7
42	76	909	2401	7,2	72	7
43	74	840	2549	7,2	8	6
44	44	29	2557	7,8	7	4
45	150	960	2711	7,0	87	4
46	39	345	3664	7,2	62	6
47	80	509	4030	7,2	116	3
48	21	218	4771	7,2	34	7
49	58	327	4828	7,2	12	3
50	74	509	2824	7,7	71	4
57	47	332	3778	7,5	17	4
58	230	210	2570	7,0	11	4
59	154	254	2798	7,8	28	3
60	28	65	3119	7,2	30	3
61	322	1782	2744	6,8	12	3
62	22	436	4406	7,2	0	5
63	116	822	1071	7,1	58	4
64	36	927	3155	7,0	65	6
65	108	218	2847	7,2	7	6
66	19	254	2193	7,0	4	7
67	124	1054	2011	6,9	22	4
68	152	2399	1201	6,9	5	5

Fortsetzung Tabelle 1

Nr.	alk. Phosph. (mU/ml)	sre. Phosph. (U/ml)	Fruktose (µg/ml)	pH	Zählung (Mill/ml)	Menge (ml)
69	114	527	4233	7,2	100	3
70	41	436	3122	7,3	24	3
71	66	690	2199	7,2	1	4
72	90	672	2215	7,0	94	4
73	63	109	2602	7,4	147	5
74	82	563	4187	7,2	47	6
75	40	210	3455	7,4	128	4
76	180	363	2184	7,5	67	4
77	120	269	3085	8,0	45	4
78	144	709	2859	7,2	13	5
79	35	411	1508	7,2	23	5
80	96	298	2357	7,0	314	4
81	65	873	4048	7,2	17	3
82	34	527	1918	7,2	6	2
83	36	709	3990	7,1	15	5
84	144	1054	3407	7,2	36	3
85	104	262	3698	7,0	50	6
86	59	702	2851	7,0	4	6
87	73	1236	2679	7,2	208	4
88	114	1418	1468	7,2	52	4
89	27	545	2917	7,2	45	5
90	30	349	3120	7,4	3	7
91	51	7	3085	8,0	0	3
93	65	556	2364	7,2	82	5
94	79	1781	1381	7,0	167	5
95	50	654	2712	7,2	90	4
96	68	672	4104	7,4	0	4
97	84	763	2587	7,2	16	5
98	35	305	4285	7,0	3	5
99	35	745	4610	7,0	30	9
100	91	721	2813	7,5	109	5
101	66	527	3322	7,4	55	7
102	23	320	5219	7,2	4	5
103	112	560	4828	7,5	118	5
104	58	873	2842	7,0	80	3
105	45	116	2374	7,7	176	7
106	297	1694	110	6,8	5	4
107	28	258	3750	7,2	7	3
108	43	484	4092	7,1	118	4
109	93	1004	2983	7,2	104	4

Tabelle 2

Nr.	alk. Phosphat. (mU/ml)	sre. Phosph. (U/ml)	Fruktose (µg/ml)	pH	Zählung (Mill/ml)	Diagnose
41	86	553	1884	7,2	0	I
62	22	436	4405	7,2	0	I
91	55	7	3085	8,0	0	I
96	68	672	4104	7,4	0	I
50	74	509	2824	7,7	71	II
64	36	927	3155	7,0	65	II
72	90	672	2215	7,0	94	II
74	82	563	4187	7,2	47	II
75	40	210	3455	7,4	128	II
77	120	269	3085	8,0	45	II
85	104	262	3698	7,0	50	II
89	27	545	2917	7,2	45	II
104	58	873	2842	7,0	80	II
105	45	116	2374	7,7	176	II
45	150	960	2711	7,0	87	III
49	58	327	4828	7,2	12	III
61	322	1782	2744	6,8	12	III
67	124	1054	2011	6,9	22	III
99	35	745	4610	7,0	30	IV
76	180	363	2184	7,5	67	IV
80	96	298	2357	7,0	314	V

Tabelle 3

D i a g n o s e n

Azoospermie	I
Isolierte Asthenospermie bei	
Samenwegsinfektion	II
OTA-Syndrom	III
Hämospermie	IV
Polyspermie	V

Tabelle 4

Nr.	alk. Phosph. (mU/ml)	sre. Phosph. (U/ml)	Fruktose (µg/ml)	pH	Zählung (Mill/ml)	Menge (ml)
			Fraktion I			
6	82	1963	-	7,2	26	1,0
7	280	2145	-	7,2	180	0,5
8	228	2465	602	7,1	78	1,8
9	208	982	923	7,0	82	1,5
10	100	836	1741	7,7	10	1,0
11	235	989	1456	7,1	194	1,5
12	106	1036	1678	7,5	10	1,0
13	240	1950	1300	7,2	135	1,0
			Fraktion II			
6	42	767	-	-	12	2,5
7	152	778	1744	7,5	208	2,0
8	108	945	1656	7,5	91	2,0
9	93	581	2560	7,4	21	2,0
10	50	316	2477	8,0	5	2,5
11	113	570	3085	7,2	43	2,0
12	40	336	3593	7,2	0	1,5
13	110	950	2950	7,3	85	2,0
			Fraktion III			
6	22	309	-	-	4	1,5
7	66	450	-	7,8	150	3,0
8	45	363	3533	7,5	32	2,5
9	18	87	-	7,4	1	0,5
10	14	80	3265	7,7	3	1,5
11	56	305	5061	7,5	8	3,0
12	20	181	4695	7,5	0	2,5
13	54	390	4980	7,6	20	1,5

LITERATURVERZEICHNIS

ANDERSCH, M.A. SZCYPINSKI, A.J.: Amer. J. Clin. Path. 17, 571 (1947)
zitiert nach: Merck-Diagnostica (1975)

BERN, H.A.: The distribution of alkaline phosphatase in the genital tract of the male mammals. Anat. Rec. 104, 361 (1949)

BESSEY, O.A. LOWRY, O.H., BROCK, M.J.: A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum
J. Biol. Chem. 164, 321 (1946)

BROCK, N. WILMANS, H.: Bestimmung der sauren und der alkalischen Serumsphosphatasen. Methodik und klinische Bedeutung
Ärztl. Labor 5, 33 - 42 (1959)

DAS, R.P., ROY, S., PODDAR, H.: Relation of phosphatases in human serum to sperm count and motility
Indian J. Med. Res. 63 (9): 1323 - 6 (1975)

DAWSON, R.M.C. MANN, T., WHITE, G.: Glycerylphosphoryl-choline and phosphorylcholine in semen and their relation to choline
J. Biochem. 65, 627 - 634 (1957)

DONDERO, F., SCIARRA, F., ISIDORI, A.: Relationship between plasma testosterone and human seminal alkaline phosphatase
Folia Endocrin. 27, 718 - 723 (1974)

EL-RIDI, M.S., et al: Human seminal fluid
Egypt. Pharm. Bull. 44, 355 - 361 (1962)

ENGBERG, H.; ANDERSSON, E., SURY, B., RÄFT, J.: The possibility of determining androgen production by measuring the acid phosphatase in semen: investigation in cryptochid patients
J. Endocrin. 5, 42 (1947)

FISHMAN, W.H., LERNER, F.: A method for estimating serum acid phosphatase of prostatic origin
J. Biol. Chem. 200, 89 - 97 (1953)

FRENKEL, G., PETERSON, R.N., DAVIS, J.E., FREUND, M.: Glycerylphosphorylcholine and carnitine in normal human semen and in postvasectomy semen: differences in concentrations
Fertil. Steril. 25, 84 - 87 (1974)

GIAROLA, A., BALLERIO, C.: Biochemistry of semen
Proc. III World Congress on Fertility and Sterility. Inter. Congress Series No. 35
Excerpta Medica Foundation, Amsterdam,
: 281 (1961)

GRAYHACK, J.T., KROPP, K.: Changes with aging in prostatic fluid: citric acid, acid phosphatase and LDH concentration in man
J. Urol. 93, 258 - 262 (1965)

GUTMAN, A.B., GUTMAN, E.B.: Acid phosphatase activity of the serum of normal human subjekts
Proc. Socl. exp. Biol. 38, 470 - 473 (1938)

GUTMAN, A.B., GUTMAN, E.B.: Quantitative relations of a prostatic component (acid phosphatase) of human seminal fluid
J. Endocrin. 28, 115 - 118 (1941)

HILL, J.H.: Prostatic serum acid phosphatase in patients with localized prostatic cancer
Am. J. clin. Path. 26, 120 - 130 (1956)

HOFFMANN - OSTENHOF, O.; EHRENREICH, R.:
Phosphormonoester - Hydrolasen
in HOPPE - SEYLER / THIERFELDER
Handbuch der Physiol. und Pathol Chem. Analyse
Bd. VI b,:
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York
1966

JAKOBSSON, K.: The determination of tartrat - inhibited phosphatse in serum
Scand. J. clin. Lab. Invest. 12, 367 - 380 (1960)

KAHANE, E., LÉVY, J.: Bull. Soc. Biol. 27, 544 - 553 (1945)
zitiert nach MANN (1964)

KIMMIG, J., STEENO, O., SCHIRREN, C.: Ergebnisse der modernen biochemischen Forschungen auf dem Gebiet der Andrologie
Internist. 8, 25 - 34 (1967)

KIPPING, D.: Zur Kenntnis der sauren Phosphormonoesterase der menschlichen Spermatozoen
Klin. Wschr. 48, 1127 - 1128 (1970)

KIPPING, D.: Über die Phosphatasen des menschlichen Samens
Clin. Chim. Acta 33, 409 - 413 (1971)

KRAUSE, W.: Transaminasen und saure Phosphatasen im Ejakulat und ihre Beziehung zur Fertilität
Hautarzt 27, 171 (1976)

KUTSCHER, W., WOLBERGS, A.: Prostataphosphatase
Hoppe Seylers Z. physiol. Chem. 236, 237 - 240 (1935)

LEWIN, L.M. BEER, R.: Prostatic secretion as the source of myo-inositol in human seminal fluid
Fertil. Steril. 24, 666 - 670 (1973)

LAZOWSKI, J.: Aktywność kwaśnych hydrolaz (kwaśnej fosfatazy i beta-glukuronidazy) oraz poziom fruktozy w plazmie nasienia ludzkiego
Polski tygodnik lekarski 21, 1263 - 1265 (1966)

LUNDQUIST, F.: Function of prostatic phosphatase
Nature 158, 710 (1946)

-- : Studies on the biochemistry of human semen 1. The natural substrat of prostatic phosphatase
Acta phys. Scand. 13, 322 (1947)

-- : Aspects of biochemistry of human semen
Acta phys. Scand. 19, Suppl. 66 (1949)

-- : THORSTEINSSON, TH., BUUS, O.:
Purification and properties of some enzymes in human seminal plasma
Biochem, J. 59, 69 - 79 (1954)

MACLEOD, J.: Human semen
Fertil. Steril. 7, 368 - 386 (1956)

MANN, T.: Studies on metabolism of semen
3. Fructose as a normal constituent of seminal plasma
site of formation and function of fructose in semen
Biochem. J. 40, 481 - 491 (1946)

--: Chemical methods in the analysis in the evaluation of semen
Proc. Soc. Stud. Fert. 3, 50 (1951)

--: Biochemistry of semen and of the male reproductive tract.
Bd. 2, Methuen, London (1964)

MERCK, E.: Alkalische Phosphatase
Merckotest - Nr. 3304
in: Diagnostica Merck (1975)

--: Saure Phosphatase
Merckotest - Nr. 3305
in: Diagnostica Merck (1975)

MOON, K.H., BUNGE, R.G.: Observation of the biochemistry of human serum. II Alkaline phosphatase
Fertil. Steril. 19, 766 (1968)

NIKOLOWSKY, W.: Der Gehalt des Ejakulates an Phosphatase bei wiederholten Untersuchungen ohne und mit medikamentöser Behandlung im Intervall.
Z. Urol. 43, 94 - 107 (1950)

OEPEN, I. u. M.: Darstellung der sauren Phosphatase in Spermaspuren
Ärztl. Labor 17, 47 - 54 (1971)

RABOCH, J., HOMULKA, J.: Saure Phosphatase im Ejakulat als Ausdruck der hormonalen Hodenfunktion
Endokrin, 42,(Leipzig) 42 - 51 (1962)

RABOCH, J., SKACHOVA, J.: The pH of human ejakulate
Fertil. Steril. 16, 252 - 256 (1956)

RICHTERICH, R., COLOMBO, J.P., WEBER, H.: Ultramikromethoden im klinischen Labor
VII. Bestimmung der sauren Prostataphosphatase
Schweiz. med. Wschr. 92, 1496 - 1500 (1962)

ROSEMUND, H.: Habilitationsschrift Zürich (1953)
zitiert nach: BROCK und WILMANS

SCHERSTEIN, B.: Über das Vorkommen der Zitronensäure in Geschlechtsdrüsensekreten
Scand. Arch. Physiol. 58, 90 - 94 (1930)

SCHIFF, A.F.: Sperm identification - acid phosphatase test
Med. Trial Tech. Q 21 (4), 467 - 474 (1975)

SCHIRREN, C.: Praktische Andrologie
Verlag Brüder Hartmann, Berlin (1971)

SCHÜLLER, W.: Zur Kenntnis der sauren Phosphatase im Spermaplasma: Bestimmungsmethode und diagnostische Bedeutung
Dissertationsschrift Freiburg/Breisgau (1975)

VAISHWANAR, P.S., ABHYANKAR, H. N.: Acid phosphatase and pH in human semen
Indien J. of Exp. Biol. 9, 261 - 263 (1971)

WALTHER, G.: Über die Verwendung von o-Carboxylphenyl-phosphat zum Nachweis saurer Phosphatase im Sperma
Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 66, 1 - 8 (1969)

LEBENSLAUF

Ich, Rainer Moeseritz, wurde als Sohn des Arztes Ewald Moeseritz und dessen Ehefrau Sorka Moeseritz am 28.5.1945 in Lindenthal bei Leipzig geboren. 1951 trat ich in die Grundschule Nachterstedt ein. 1961 gelang mir die Flucht in die BRD, wo ich 1968 die Prüfung als staatlich geprüfter Chemotechniker bestand. 1972 legte ich als Abendgymnasiast die Reifeprüfung an dem Eberhard-Ludwigs-Gymnasium in Stuttgart mit Erfolg ab. Mit dem Wintersemester 1973 begann ich, nach einjähriger Tätigkeit als Pflegehelfer in Stuttgart-Feuerbach, mein medizinisches Studium an der Universität Hohenheim. Vom Wintersemester 1974/1975 an, war ich an der Universität Tübingen immatrikuliert und bestand hier nach dem vierten vorklinischen Semester die ärztliche Vorprüfung und am 10. April 1980 den dritten Abschnitt des Staatsexamens. Seit 1.7.1980 bin ich an der Chirurgischen-Klinik in Stuttgart-Feuerbach als Assistenzarzt beschäftigt.

Sprint-Druck GmbH
7000 Stuttgart 30
Wiener Str. 117
Tel. 0711/81 26 69